



**Mafalda Marques Morgado Costa Reis**

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

## **Avaliação dos Tempos de Espera nas Etapas de Fabrico (Hold Time Studies)**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia  
Química e Bioquímica

Orientador: Dr.<sup>a</sup> Ana Margarida Vilares Cepêda, Garantia da Qualidade,  
Laboratórios Atral, SA

Co-Orientador: Professor Doutor Mário Fernando José Eusébio,  
FCT-UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutor José Paulo Barbosa Mota

Arguente(s): Engenheiro Ricardo Jorge Milheiro Dias Tavares Grilo

Vogal(ais): Ana Margarida Vilares Cepêda



Avaliação dos Tempos de Espera nas Etapas de Fabrico

Copyright © Mafalda Marques Morgado Costa Reis, da Faculdade de Ciências e Tecnologias, da Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor



(Este documento não obedece às regras do novo acordo ortográfico)



Aos meus avós

À minha família

Ao meu namorado e amigos





“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito.

Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

**Marthin Luther King**



## Agradecimentos

Por trás das minhas realizações pessoais/profissionais, além de um grande esforço próprio, esconde-se, normalmente, um número significativo de contribuições, vindas de muitas pessoas. A sua importância assume, na atualidade, uma influência tão preciosa que, sem elas, com toda a certeza, o meu percurso não teria sido igual.

Esta área é dedicada àqueles que, de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado. Não sendo exequível referi-los a todos, há no entanto alguns a quem não posso deixar de manifestar o meu apreço e sincero agradecimento. Desta forma deixo aqui apenas algumas palavras de agradecimento.

A todos os professores e colegas da Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa que permitiram que o meu percurso tivesse sido incrível e por me terem feito chegar até aqui. Em especial ao professor Mário Eusébio por me ter acompanhado nesta etapa.

Agradeço ao grupo AtralCipan pela disponibilidade para a realização da minha dissertação, a etapa final do meu percurso académico. Não poderia ter terminado de melhor forma, não só pelas pessoas envolvidas mas também porque a área da farmacêutica sempre foi o meu objetivo.

À Dr.<sup>a</sup> Margarida Cepeda um especial agradecimento, pela sua orientação, simpatia e conhecimentos transmitidos ao longo destes últimos 6 meses.

Ao Engenheiro Ricardo Grilo um sincero agradecimento pela sua amabilidade, disponibilidade e boa disposição.

Ao sector da Garantia da Qualidade na sua totalidade, pela disponibilidade e por ter permitido que a minha estadia na Atral fosse o mais agradável possível. Adquiri conhecimento que sei que irá ser fundamental na minha vida futura. Não posso deixar de realçar o grande apoio e ajuda da Nádia Rodrigues e da Sofia Marques, sobretudo na fase de inicial de adaptação.

Um sincero agradecimento aos profissionais do departamento do Controlo da Qualidade (CQ) durante todo o meu estágio. À Marina, à Paula, à Helena, à Marisa, à Clara e ao Nuno que sempre me ajudaram em alturas complicadas. Não poderia deixar de mencionar a Ágata, a minha orientadora dentro do CQ. Sem ela, esta etapa teria sido muito mais difícil. A todos os profissionais do Desenvolvimento que foram uma simpatia e aos das Matérias-primas que também estiveram sempre presentes. À engenheira Iva Vinhas quero agradecer pela boa disposição e disponibilidade durante esta etapa. Ao Dr. José Manuel por toda a simpatia que

sempre demonstrou. À engenheira Fernanda por toda a paciência, por tudo o que me transmitiu e sobretudo pelo carinho que sempre teve por mim. A todos, um sincero obrigada.

À Joana Santos, a minha companhia nesta aventura nova para ambas, não podia ter sido melhor. Obrigada por ter partilhado comigo o nervosismo dos primeiros tempos e tudo o que veio depois.

A Catarina Vieira, que me acompanhou na última etapa da dissertação e com quem pude partilhar os meus receios e ansiedades. Obrigada pela companhia em todas as viagens para casa.

Nunca poderia esquecer o apoio do meu namorado que me deu motivação para me levantar a cada dia, lembrando-me sempre que conseguiria chegar ao fim deste longo percurso. Foi uma pessoa incrível e agradeço por ter aturado todas as minhas crises, fossem elas de sono, de choro ou de outra coisa qualquer. Eu sei que não foi fácil.

A todas as minhas amigas, que de longe ou de perto me aqueceram o coração com palavras de conforto e determinação quando achei que não era capaz. Seria impensável não agradecer, em particular, à Jessica Viegas, à Carolina Silva, à Margarida Pais e a Natacha Amaral. Nunca teria chegado até ao fim sem a presença delas na minha vida. Sei que são amizades que nunca irei perder. Por todas as horas de conversa, todos os jantares e todos os disparates ao longo deste anos mas sobretudo nestes últimos meses. Um enorme obrigada.

E como os últimos são sempre os primeiros, tendo consciência de que sozinha este percurso não teria sido possível, dirijo um agradecimento especial ao meu pai que me possibilitou tudo a todos os níveis. Ao meu irmão, que sei que estará sempre presente independentemente do que acontecer. À minha mãe, que sei que a qualquer altura da minha vida me irá amparar como sempre o fez. Foram um exemplo de coragem, incentivo, amizade e de total apoio na superação dos obstáculos que foram surgindo. À minha cadela Zara pela companhia que me fez em tempos difíceis. Mesmo estando sempre longe são a minha família para toda a vida. Um sincero obrigada!

# Resumo

Para garantir a qualidade de um produto, é fundamental assegurar que todo o processo decorra de acordo com as normas estipuladas, apresentando conformidade. Assim, é possível demonstrar perante todas as entidades e clientes que os produtos apresentem todos os requisitos acordados previamente na Autorização de Introdução no Mercado (AIM).

O conceito de qualidade é fundamental na indústria farmacêutica e desta forma, deve existir uma procura contínua pela optimização. É vital superar obstáculos que impossibilitem as condições necessárias para uma produção contínua. Por vezes as condições atmosféricas não permitem obter os valores desejados de temperatura e humidade ou pode ocorrer uma avaria num equipamento exigindo a sua reparação/substituição. Estas, entre outras situações, levam a que os produtos fiquem armazenados até prosseguirem. Para assegurar a sua qualidade é fundamental que mantenham as suas propriedades enquanto permanecem em espera. Neste contexto surgem os *hold time studies*, que certificam essa mesma qualidade durante um determinado período de tempo. Não só permitem um decréscimo dos pedidos de análise, recorrentes e de carácter imprevisível, como oferecem uma maior flexibilidade quanto à agenda, ou *scheduling*, de produção.

Desenvolvida na Garantia da Qualidade dos Laboratórios Atral (grupo AtralCipan) durante seis meses, esta dissertação reflete o estudo de quatro produtos, de sectores distintos e com formas farmacêuticas diferentes, obtendo uma maior multiplicidade de factores envolventes. Sendo uma abordagem recente, leva a que a bibliografia disponível seja ínfima.

O objectivo consistiu em analisar as formas farmacêuticas associadas aos produtos seleccionados e as etapas críticas correspondentes, ao longo de períodos de tempo pré-estabelecidos. Após os ensaios apropriados, foi possível determinar a estabilidade de cada um. Nem sempre foi possível realizá-los nas datas previstas, no entanto os resultados encontram-se o mais próximo possível do ideal. Três dos produtos analisados alcançaram os objetivos esperados, mantendo a sua qualidade para os tempos protocolados.

**Palavras-chave:** Indústria Farmacêutica, Qualidade, *Hold-Time Studies*, Limites de Especificação, Etapas Críticas, Eficácia.



# Abstract

To guarantee the quality of a product, it is essential to ensure that the whole process is carried out according to the stipulated standards, showing compliance. Thus, it is possible to demonstrate before all entities and customers that products present all previously agreed requirements in the marketing authorization (MA).

The concept of quality is crucial in the pharmaceutical industry and in this way, there must be a continuous search for optimization. It is vital to overcome obstacles that prevent the necessary conditions for continuous production. Sometimes the weather conditions do not allow obtaining the desired values for temperature and humidity or there is a malfunction of any equipment requiring repair/replacement. These, among other situations, lead to stay stored products to continue. To ensure its quality is fundamental to maintain its properties while remaining on hold. Notifying the hold time studies, certifying that same quality for a set period of time. Not only enable a reduction in requests for analysis, recurrent and unpredictable in nature, as they offer more flexibility regarding the agenda, or scheduling, production.

This dissertation was developed in quality assurance laboratories at Atral, AtralCipan group, and reflects the assessment of wait times, or Hold Time Studies, of products from different sectors and with different dosage forms, obtaining a greater multiplicity of surrounding factors.

Developed in Atral quality assurance laboratories (AtralCipan group), This essay reflects the study of four distinct sectors, products and with different dosage forms, obtaining a greater multiplicity of surrounding factors. Being a recent approach leads to the bibliography available is tiny.

The aim was to analyze the pharmaceutical forms associated with the selected products and the corresponding critical steps along pre-established periods of time. After appropriate testing was possible to enunciate the stability of each. It was not always possible to perform them on dates, however the results are as close as possible to the ideal. Three of the analyzed products achieved the expected goals and maintaining its quality.

**Keywords:** Pharmaceutical Industry, quality, Hold-Time Studies, Specification limits, Critical Steps, Effectiveness.





1.	Introdução.....	1
1.1.	Enquadramento e Motivação .....	1
1.2.	AtralCipan .....	2
1.3.	Laboratórios Atral .....	3
1.4.	Controlo e Garantia da Qualidade.....	3
1.5.	Qualidade na indústria farmacêutica.....	4
1.6.	Sistema de Gestão da Qualidade e a ISO 9001 .....	5
1.7.	Good Manufacturing Practice (GMP) .....	6
1.8.	Estratégia e Controlo de Risco.....	7
1.9.	<i>Hold Time Studies</i> .....	9
1.10.	Formas Farmacêuticas.....	10
1.11.	Substâncias Activas e Excipientes.....	10
1.12.	Armazenamento das amostras .....	12
1.13.	Fases de Processo.....	13
1.14.	Ensaio.....	13
1.15.	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i> (HPLC) .....	14
2.	Metodologia .....	17
2.1.	Cromatogramas.....	17
2.1.1.	Factor de Resolução .....	20
2.1.2	Número de Pratos Teóricos .....	20
2.1.3.	Factor de Assimetria ou <i>Tailing Factor</i> .....	20
2.1.4.	Factor de Capacidade .....	22
2.1.5.	Tempo de Retenção Relativo .....	22
2.1.6.	Repetibilidade das Áreas .....	23
2.2.	Técnicas .....	23
2.2.1.	Doseamento.....	23
2.2.2.	Humidade (teor em água) .....	24
2.2.3.	Dissolução.....	26

2.2.4. pH.....	27
2.2.5. Densidade Inicial e Densidade Batida .....	28
2.2.6. Granulometria .....	29
2.2.7. Contaminação Microbiana .....	30
2.3. Protocolos.....	30
2.4. OOS (Out Of Specification) .....	31
3. Apresentação e Discussão de Resultados .....	35
3.1. Produto A.....	36
3.1.1. Mistura Final.....	37
3.1.2. Comprimidos para Revestir .....	39
3.1.3. Comprimidos Revestidos .....	41
3.2. Produto B.....	43
3.2.1. Mistura Final .....	44
3.3. Produto C .....	46
3.3.1. Mistura Final .....	46
3.3.2. Comprimidos para Revestir .....	47
3.3.3. Comprimidos Revestidos.....	49
3.4. Produto D .....	51
3.4.1. Solução por Filtrar .....	51
3.4.2. Solução Filtrada .....	52
3.5. Investigação .....	54
3.5.1. Efeito da compactação sobre a uniformidade da mistura.....	55
3.5.2. Efeito da segregação da SA A na amostragem.....	57
4. Conclusões .....	58
5. Bibliografia .....	65
6. Apêndice.....	65

## Índice de Figuras

Figura 1.1 - Atral Cipan; .....	2
Figura 1.2 - Laboratório de Controlo da Qualidade no Atral;.....	4
Figura 1.3 - Equipamento de HPLC;.....	14
Figura 1.4 – Cromatograma, exemplo de uma substância com três compostos;.....	15
Figura 2.1 – Utilização de padrões de referência para a identificação do pico; .....	18
Figura 2.2 - Técnica de spiking para identificação de picos; .....	19
Figura 2.3 – Imagem representativa dos parâmetros utilizados no Factor de Assimetria;.....	21
Figura 2.4 – Influência da simetria do pico; .....	22
Figura 2.6 - Equipamento de dissolução;.....	26
Figura 2.7 - Equipamento de medição de pH; .....	28
Figura 2.10 - Representação esquemática do procedimento de uma investigação OOS; .....	32
Figura 3.1- Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias do lote D067 .....	37
Figura 3.2 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias do lote D068.....	38
Figura 3.3 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias do lote D069.....	38
Figura 3.4 - Resultados do ensaio de Karl-Fischer no decorrer de 14 dias .....	39
Figura 3.5 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias do lote D067.....	39
Figura 3.6 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias do lote D068.....	40
Figura 3.7 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias do lote D069.....	40
Figura 3.8 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias do lote D067 .....	40
Figura 3.9 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias do lote D068 .....	41
Figura 3.10 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias do lote D069 .....	41
Figura 3.11 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias do lote D067.....	42
Figura 3.12 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias do lote D068.....	42
Figura 3.13 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias do lote D069.....	42
Figura 3.14 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 180 dias do lote D067 .....	43
Figura 3.15 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias do lote D068 .....	43
Figura 3.16 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias do lote D069 .....	43
Figura 3.17 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 60 dias do lote D014 .....	44

Figura 3.18 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 60 dias do lote D015 .....	44
Figura 3.19 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 60 dias do lote D016 .....	45
Figura 3.20 - Resultados do ensaio de Karl-Fischer no decorrer de 14 dias .....	45
Figura 3.21 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias .....	47
Figura 3.22 - Resultados do ensaio de Karl-Fischer no decorrer de 14 dias .....	47
Figura 3.23 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias) .....	48
Figura 3.24 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias .....	49
Figura 3.25 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias .....	50
Figura 3.26 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 180 dias .....	51
Figura 3.28 - Resultados do ensaio de pH no decorrer de 15 dias .....	52
Figura 3.29 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 15 dias) .....	53
Figura 3.30 - Resultados do ensaio de pH no decorrer de 15 dias .....	53
Figura 3.31 – Fracções obtidas após o ensaio de granulometria .....	55
Figura 3.32 - Média dos resultados obtidos durante 14 dias no ensaio de doseamento .....	56
Figura 3.33 - Representação da curva de granulometria antes e depois da compactação .....	57
Figura 3.34 - Resultado do ensaio de doseamento à SA A no topo e base da barrica .....	58
Figura 3.35 - Resultado do ensaio de doseamento à SA B no topo e base da barrica .....	58
Figura 3.36 - Média dos resultados obtidos no ensaio de doseamento .....	59

## Índice de Tabelas

Tabela 1-1 - Vias de administração e correspondentes formas farmacêuticas .....	12
Tabela 1-2 - Etapas Críticas e tempos de estudo e ensaios associados a cada produto <sup>[13]</sup> .....	13
Tabela 3-1 - Temperatura e humidade relativas adequadas para cada produto intermédio .....	35
Tabela 3-2 - Resumo explicativo das condições para os Hold Time Studies de cada produto..	36
Tabela 3-3 - Resultados do ensaio de granulometria com uma nova etapa de compactação...	56
Tabela 3-4 - Resultados do ensaio de densidade com uma nova etapa de compactação .....	57
Tabela 4-1 - Tabela resumo do total de dados obtidos .....	63



## Lista de Símbolos, Abreviaturas e Siglas

<b>AIM</b>	Autorização de Introdução no Mercado
<b>AP</b>	Armazém de Aprovisionamento
<b>APR</b>	Análise preliminar de Riscos
<b>CQ</b>	Controlo da Qualidade
<b>DTG</b>	Desenvolvimento Técnico e Galénico
<b>EMA</b>	Agência Europeia de Medicamentos
<b>FMEA</b>	Análise de Modos de falha e seus efeitos
<b>FMECA</b>	Análise de Modos de falha, efeitos e criticidade
<b>FTA</b>	Análise da Árvore de Falha
<b>FSO</b>	Formas Sólidas Orais
<b>FLP</b>	Formas Líquidas Pastosas
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>GMP</b>	Good Manufacturing Practice
<b>GQ</b>	Garantia da Qualidade
<b>GC</b>	Gas Chromatography
<b>HPLC</b>	High Pressure Liquid Chromatography
<b>HTS</b>	Hold Time Studies
<b>HACCP</b>	Análise dos perigos e pontos críticos de controlo
<b>HAZCP</b>	Análise dos Perigos e Operabilidade
<b>HR</b>	Humidade Relativa
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization
<b>ICH</b>	International Conference Harmonization
<b>INJ</b>	Injectáveis
<b>IT</b>	Instrução Técnica
<b>LSL</b>	Lower Specification Limit
<b>MP</b>	Matérias-primas
<b>MHRA</b>	Regulating Medicines and Medical Devices

<b>ODT</b>	Orodispersíveis Desintegráveis
<b>OOS</b>	Out of Specification
<b>OOT</b>	Out of Trend
<b>PR</b>	Produção
<b>PAG</b>	Produto a Granel
<b>RL</b>	Registo de Lote
<b>RSD</b>	Relative Standard Deviation
<b>SA</b>	Substância Activa
<b>SGQ</b>	Sistema de Gestão da Qualidade
<b>SOE</b>	Suspensão Oral Extemporânea
<b>TAMC</b>	Total Aerobic Microbial Count
<b>TYMC</b>	Total Yeast Mold Count
<b>USL</b>	Upper Specification Limit
<b>WHO</b>	World Health Organization



# 1. Introdução

## 1.1. Enquadramento e Motivação

Durante a produção de um medicamento é necessário assegurar que todo o procedimento decorra de acordo com as condições estipuladas. No entanto, nem sempre isso acontece. Por vezes, as condições atmosféricas exteriores não são as melhores não permitindo que a temperatura e humidade relativas sejam as desejadas na produção; ou existe uma mudança na ordem de trabalhos ou simplesmente ocorre uma avaria de um equipamento. Seja qual for o motivo, os produtos podem necessitar de ficar armazenados em fases intermédias até avançarem para a fase seguinte. No entanto é vital assegurar que estes mantenham a sua qualidade enquanto permanecem em fase de espera. Assim, e por forma a evitar análises constantes e inesperadas por parte dos sectores de Controlo e Garantia da qualidade, existem estudos de estabilidade, *hold time studies*, que possibilitam assegurar a sua qualidade durante um determinado período de tempo.

Esta dissertação reflete assim um estudo aprofundado sobre a qualidade dos produtos farmacêuticos intermédios, sob as condições de armazenamento usuais, durante um determinado tempo. Estes estudos de estabilidade são de uma importância extrema uma vez que permitem uma maior flexibilidade à empresa e à sua produção e, uma vez documentados, permitem, tanto ao cliente como a um auditor, uma garantia extra da qualidade dos produtos intermédios.

O objetivo fundamental assenta na análise das propriedades de todos os produtos em estudo. É da responsabilidade do sector do Controlo da Qualidade realizar todas as análises necessárias e da responsabilidade do sector da Garantia da Qualidade verificar e assegurar que tudo se encontra de acordo com os seus limites de especificação técnica, minimizando ao todos os erros associados. Esta necessidade de assegurar a qualidade e eficácia de todos os produtos farmacêuticos, durante todo o seu ciclo de vida, faz da empresa uma marca de excelência.

A análise de quatro formas farmacêuticas com diferentes vias de administração produzidas em sectores distintos, permitiu assim uma visão mais abrangente dos requisitos para cada um dos produtos entre os quais os testes a realizar e/ou os tempos de espera a estabelecer.

## 1.2. AtralCipan

O que começou por ser uma farmácia num bairro lisboeta em Alcântara, é hoje uma das maiores empresas na indústria farmacêutica. O grupo Atral/Cipan surgiu numa época pós-guerra, economicamente viável para o sector. Ao contratar novos técnicos, conseguiu um aumento progressivo do seu número de exportações para todos os continentes. Um marco valioso na história do grupo foi a aprovação dos laboratórios Atral e mais tarde dos produtos Cipan que permitiram uma expansão substancial para o mercado dos E.U.A. Actualmente, os laboratórios encontram-se localizados no Carregado, perto de Lisboa (figura 1.1).



*Figura 1.1 - Atral Cipan;*

*[Fonte: AtraCipan]*

Com sete décadas de vida, o grupo Atral/Cipan procura atingir uma posição de liderança, mantendo parcerias duradouras no desenvolvimento, *scale-up*, fabrico e comercialização de princípios ativos para a indústria farmacêutica e de especialidades farmacêuticas.

Sempre presente, está o compromisso no cumprimento da legislação aplicável às actividades da empresa, preservando as boas práticas de fabrico com a colaboração de profissionais qualificados que por sua vez fornecem aos clientes produtos com eficácia garantida e máxima segurança. É desta forma que a Atral/Cipan reforça a confiança com todos os seus acionistas, colaboradores, clientes e comunidade <sup>[1]</sup>.

### 1.3. Laboratórios Atral

O nome dos laboratórios Atral esteve desde sempre associado aos antibióticos, o que ainda hoje se verifica e se mantém como um dos seus eixos de produção. A sua missão é garantir a eficácia e acessibilidade dos seus medicamentos a toda a população.

Dispõem de uma vasta gama de produtos que se distinguem pela sua qualidade, eficácia e segurança, distribuídos não só a nível nacional como internacional. Alguns dos produtos que fazem parte do seu *dossier* comercial são, por exemplo, medicamentos para o aparelho digestivo, respiratório e sistema nervoso.

Desta forma, e porque assim é exigido, os laboratórios estão divididos em dois edifícios; o edifício 10 e o 25, que por sua vez se repartem em distintos sectores.

Do edifício 10 fazem parte os sectores das Formas Líquidas e Pastosas (FLP) que, tal como o nome indica, produz desde xaropes, gotas, supositórios a pomadas; os sectores de Formas Sólidas e Orais 1 e 3 (FSO 1 e FSO 3), responsáveis pelo fabrico de cápsulas, comprimidos e saquetas; o sector de FSO 3 está encarregue das formas celafosporínicas sólidas; e ainda o sector dos injetáveis (INJ 3 UC) com capacidade de produção estéril de pós cefalosporínicos.

No edifício 25 encontram-se os sectores FSO 2 e INJ 2 UP. Tal como no edifício 10, o FSO 2 produz suspensões, saquetas, cápsulas e comprimidos penicilínicos e o INJ 2 UP produz pós injetáveis penicilínicos.

### 1.4. Controlo e Garantia da Qualidade

Os departamentos de Controlo e Garantia da Qualidade são dois sectores vitais numa empresa farmacêutica. São responsáveis por verificar e assegurar que os produtos estão dentro dos padrões de qualidade exigidos de acordo com procedimentos pré-definidos e em conformidade com as *Good Manufacturing Practice* (GMP). Para isso são realizadas operações de optimização de processos, redução de tempos e desperdícios ou padronização de procedimentos [2].

O sector do Controlo da Qualidade (figura 1.2) é constituído maioritariamente por laboratórios físico-químicos, microbiológicos e de análises, e tal como é designado pela norma NP ISO 9000:2005 está relacionado com uma perspetiva de satisfação dos requisitos da qualidade [3].

Em particular, a Garantia da Qualidade, e de acordo com a mesma norma, “faz parte de uma gestão da qualidade orientada no sentido de gerar confiança quanto à satisfação dos requisitos da qualidade”. Além disso, é da responsabilidade deste mesmo departamento a revisão da informação analítica, da folha de registo dos lotes e da revisão dos desvios

relevantes para que o lote seja aprovado. Entre outras actividades, é também responsável pelo trabalho de validação e qualificação, auditorias internas e externas, aprovação de fornecedores, aprovação de todos os documentos relativos ao Sistema da Qualidade e que tenham impacto na qualidade do produto [2].

Em suma, ambos os sectores têm vindo a destacar-se, tornando-se assim numa das etapas mais importante de todo o processo.



*Figura 1.2 - Laboratório de Controlo da Qualidade no Atral;*

### **1.5. Qualidade na indústria farmacêutica**

De acordo com o conceito estabelecido internacionalmente para a Qualidade, através da norma NP EN ISO 9000:2005, esta define-se pelo grau de satisfação de requisitos dados por um conjunto de características intrínsecas. Um conceito fundamental intrínseco à qualidade é o cliente e a sua satisfação [4].

A qualidade de um produto e respetivas matérias-primas, equipamentos e processo, é da responsabilidade de todos os intervenientes envolvidos no processo. Desde os fornecedores, produtores, distribuidores e farmácias até ao destino final do produto, o consumidor, todos são responsáveis pela sua Qualidade.

O facto de os requisitos não serem satisfeitos, pode dar origem a situações de reclamação, recolha do produto nos mercados, ações judiciais e quebra nas vendas. Articulado com estes danos, surge a má reputação a que a empresa farmacêutica fica associada, resultando em prejuízos irreparáveis no sucesso da mesma.

São as Boas Práticas de Fabrico (GMP) incluídas no Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ) que permitem que todos os registos não conformes sejam identificados com maior facilidade e, desta forma, verificados e solucionados.

Para que exista um decréscimo de todas as irregularidades, são realizadas inspeções/auditorias internas e externas que avaliam e julgam as conformidades, acompanhadas por medições, ensaios e comparações. Assim, em Portugal, é de referir a

autoridade responsável, o INFARMED, inspeciona periodicamente a indústria farmacêutica (a cada 3 anos) por forma a emitir um certificado e respetiva autorização, concedendo o seu reconhecimento a nível europeu. O INFARMED reporta esta actividade à EMA, ou Agência Europeia de Medicamentos. Da mesma forma, a entidade reguladora nos EUA é a FDA (*Food and Drugs Administration*) e para que seja possível exportar ou importar medicamentos para esse país, é necessário obter a sua aprovação.

Como é possível observar, o permanente controlo da qualidade dos produtos farmacêuticos é a maior arma da indústria farmacêutica contra a concorrência. Uma atitude distinta em relação à Qualidade permite superar os níveis de excelência para a qual uma melhoria contínua é essencial [5].

## **1.6. Sistema de Gestão da Qualidade e a ISO 9001**

Como foi previamente referido, toda a comunidade está cada vez mais consciente do conceito de qualidade e por isso os clientes esperam ser satisfeitos de acordo com as mais altas exigências de qualidade dos produtos e serviços [4].

Um conjunto de regras designado por ISO 9001 (*International Organization for Standardization*) tem como finalidade padronizar a nível mundial as normas técnicas associadas à Qualidade. Quando o Sistema de Gestão da Qualidade, ou SGQ, segue a norma ISO 9001, é possível afirmar um compromisso com a qualidade e satisfação dos seus clientes.

Os principais objetivos da ISO 9001 resumem-se a um maior potencial competitivo através da melhoria da produtividade, retorno financeiro e optimização dos procedimentos utilizados no processo. Baseiam-se em oito princípios de gestão da qualidade:

- Focalização nos Clientes;
- Liderança;
- Envolvimento das Pessoas;
- Abordagem por Processos;
- Abordagem à Gestão através de um Sistema (SGQ);
- Melhoria Contínua;
- Abordagem à Tomada de Decisões Baseada em Factos;
- Relações com Fornecedores com Benefícios Mútuos [4-5].

A reputação da ISO e o reconhecimento internacional do Sistema de Gestão da Qualidade, enaltecem a imagem de qualquer empresa. Demonstrar um real compromisso, resulta em benefícios significativos:

- Estímulo empresarial;
- Elevados níveis de qualidade

Condensando vários conceitos já mencionados, é possível falar numa evolução do Sistema da Qualidade que passa por uma inspeção inicial, progredindo para um Controlo da Qualidade e, assim, uma consequente Garantia do produto. Após todas estas etapas, atinge-se um patamar de qualidade global que pode ser definido como um esforço global de uma empresa para uma melhoria contínua, atingindo assim a satisfação do cliente [6].

Os laboratórios Atral seguem as normas apresentadas na ISO 9001 no entanto não são certificados pela mesma.

### **1.7. Boas Práticas de Fabrico (GMP)**

As GMP fazem parte de um sistema de regulamentos, promulgados pelas entidades responsáveis no país em questão, em Portugal promulgadas pelo Infarmed. São responsáveis por garantir a segurança, pureza e eficiência dos produtos de acordo com os padrões de qualidade exigidos. Estes requerem uma acção proactiva por parte de todos os envolvidos no processo e estão formuladas de maneira a minimizar os riscos envolvidos em qualquer produção farmacêutica.

As GMP abrangem todos os aspetos da produção desde os materiais, instalações e equipamentos até à formação e higiene pessoal dos funcionários. Os procedimentos estão escritos de forma detalhada e são essenciais para cada fase do processo que possa afetar a qualidade do produto acabado. Nas orientações estão incluídas; a manutenção de registos na qualificação do pessoal, o saneamento, a limpeza, a verificação do equipamento, a validação dos processos e a gestão de reclamações. Ainda assim, todas estas solicitações não são rígidas, permitindo uma certa flexibilidade ao fabricante.

Resumindo, estes regulamentos ajudam na proteção do consumidor uma vez que são produzidos de acordo com um conjunto de medidas que permitem minimizar ou até eliminar erros, perturbações e contaminações, evitando que sejam vendidos produtos perigosos e ineficientes [7].

No âmbito deste projeto, as Boas Práticas de Fabrico (GMP) exigem que devem ser tomadas medidas que assegurem que as matérias-primas e materiais de embalagem, produtos intermédios, produtos a granel e produtos acabados sejam armazenados sob as condições apropriadas e que os meios de acondicionamento não tenham efeitos sobre a estabilidade, a segurança, a eficácia ou a qualidade. Os períodos de espera aceitáveis devem ser

estabelecidos para garantir que os produtos intermédios e a granel possam ser considerados enquanto aguardam a próxima etapa de processamento, sem nunca produzir resultados fora dos critérios de aceitação para a qualidade do material.

A escolha do período de exploração máxima deve ser auxiliada por dados relevantes. Não deve ser prolongada de forma a determinar os limites extremos do produto em que ocorre a sua falha. Apenas é necessário assegurar que, durante o período de tempo estabelecido, os materiais estão de acordo com as condições determinadas e permaneçam dentro das especificações definidas.

Os estudos de *hold-time* estabelecem prazos para os materiais em diferentes fases de produção de maneira que o desenho do estudo reflita o tempo de armazenagem em cada estágio.

Os tempos de espera normalmente devem ser determinados antes da comercialização de um produto. Apesar de já serem mencionados na legislação, não são de carácter obrigatório. São um complemento muito importante uma vez que permitem uma flexibilidade na produção, diminuição dos pedidos de análise e de certa forma uma optimização do processo.

A utilização de um fluxograma facilita a revisão do processo de fabrico de um produto facilitando a identificação das fases críticas do processo, o período de tempo necessário para o armazenamento e condições de armazenamento. Deve ser criado um protocolo e/ou um procedimento escrito, programando os tempos de espera e que inclua os ensaios a serem executados, os critérios de aceitação bem como o acondicionamento do material ou produto [8]. Esta temática encontra-se mais desenvolvida no ponto 2.3. desta dissertação.

Nos ensaios a considerar e para certos produtos, os aspetos microbiológicos devem também ser incluídos. Normalmente devem ser utilizados 3 ou mais lotes para a determinação de tempos de espera. Os recipientes em que as amostras são armazenadas devem ser semelhantes aos utilizados na produção. Este tópico é discutido mais detalhadamente no ponto 1.12. Todos os métodos utilizados já se encontravam validados com excepção dos utilizados para a mistura final.

## **1.8. Estratégia e Controlo de Risco**

O conceito de Avaliação de Risco é definido como a estimativa de probabilidade de ocorrência de um determinado acontecimento e a provável magnitude dos seus efeitos adversos durante um determinado período de tempo [9]. Assim, a gestão de risco consiste em minimizar o eventual impacto negativo resultante da sua materialização ao nível da empresa e dos seus *stakeholders*, bem como em avaliar as relações de retorno-risco tendo em vista a aplicação de soluções de optimização [10].

Numa abordagem mais próxima ao mundo farmacêutico, a gestão de risco traduz-se num processo sistemático para a avaliação, controlo, comunicação e revisão de riscos com vista na qualidade do fármaco (medicamento) durante o ciclo de vida do produto<sup>[10]</sup>.

É fácil de compreender que a gestão de riscos associados à qualidade permite uma melhor tomada de decisão com suporte científico e prático. Esta estratégia transmite métodos para a realização passo a passo, com base no conhecimento atual sobre a avaliação da probabilidade, severidade e por vezes a detecção do risco. É de referir que a sua eficácia possibilita a identificação e controlo de novas falhas que possam ocorrer. Após este processo é necessário proceder à redução do(s) risco(s) identificado(s) ou à sua aceitação. Quando a estratégia passa pela sua redução, os procedimentos podem ser de carácter atenuante ou preventivo.

O fabrico e utilização de um medicamento poderá implicar um certo grau de risco. Esse risco associado à sua qualidade é apenas um dos componentes do risco global. A qualidade do produto é uma prioridade e deve ser mantida durante todo o seu ciclo de vida. Por este motivo, é vital que as suas características permaneçam constantes e dentro dos limites de especificação delimitados pelos estudos clínicos. Uma eficaz gestão de riscos reforça a qualidade do medicamento e assegura a sua eficácia.

Existem ainda outras componentes de risco global: o risco associado à segurança e à empresa. Enquanto a primeira se traduz nos possíveis danos para o ambiente e operadores, a segunda exprime o impacto nos custos devido a componentes que necessitem de reparação e/ou substituição, mão-de-obra extra e diminuição de produção que consequentemente possa levar a uma quebra no rendimento e lucro da empresa.

Existem dois princípios básicos para uma gestão dos riscos da qualidade. Primeiramente, a avaliação do risco deve ser baseada no conhecimento científico tendo em conta a proteção do paciente. Além disso, o nível de esforço, a formalidade e a documentação do processo devem ser proporcionais ao nível de risco.

Os riscos são avaliados e geridos por uma variedade de procedimentos com base em observações, tendências e outras informações. Além disso, a indústria farmacêutica e os reguladores podem avaliar e gerir o risco usando ferramentas de gestão de riscos já conhecidos. Seguem-se alguns exemplos dessas ferramentas:

- Modo de Falha para Análise de Efeitos (FMEA);
- Modo de Falha, Efeitos e Análise de Criticidade (FMECA);
- Análise dos Perigos e Pontos Críticos de Controlo (HACCP);
- Análise dos Perigos e Operabilidade (HAZOP);
- Análise Preliminar de Riscos (APR).



Os métodos de gestão de risco e os instrumentos estatísticos de apoio podem ser combinados, o que proporciona uma maior flexibilidade, facilitando a aplicação dos princípios de gestão dos riscos de qualidade. O grau de rigor e formalidade de gestão dos riscos de qualidade deve refletir o conhecimento disponível e ser proporcional à complexidade e/ou criticidade da questão a ser abordada <sup>[11]</sup>.

Esta temática assume uma certa importância na avaliação dos tempos de espera. Ainda que não tenha sido utilizada uma ferramenta em particular, de uma forma informal a gestão dos riscos associados à qualidade influenciou a escolha dos produtos a estudar. Foram selecionados os produtos mais comercializados para que o impacto do estudo fosse maior. Uma vez que são produzidos com maior frequência, as conclusões obtidas no final do estudo poderão implicar uma gestão mais eficaz.

### **1.9. *Hold Time Studies***

Os *Hold Time Studies* correspondem aos estudos que garantem que os produtos (desde as matérias-primas, produtos intermédios, *bulk* (ou a granel), aos produtos acabados sob quarentena) mantenham as suas especificações durante um determinado período de tempo, sob as condições de armazenamento desejadas <sup>[12]</sup>. Deve ser assegurada a qualidade do produto e a sua estabilidade durante todas as fases do processo. Os períodos de espera devem ser validados para garantir que o produto possa permanecer inalterado até progredir para a nova fase do processo, sem qualquer efeito adverso na qualidade e eficácia do mesmo. Todas as orientações para os estudos de estabilidade são mencionadas nas orientações estabelecidas pelo *International Conference Harmonisation* (ICH), pela FDA, pelas Autoridades de Saúde dos Países Europeus (EMA) e ainda pela *World Health Organization* (WHO) <sup>[13]</sup>.

Podem ser inseridos na categoria de estudos de estabilidade, que por sua vez podem ser considerados a longo prazo, em tempo real/em curso, entre outros. Todos os tipos de estudos de estabilidade requerem um método analítico que é específico para cada substância activa por forma a permitir a determinação da estabilidade da preparação. Os parâmetros a determinar devem ser definidos previamente <sup>[14]</sup>.

De acordo com as GMP, as matérias-primas dispensáveis, os materiais embalados, os produtos intermédios, *bulk* e os produtos acabados deverão ser armazenados sob as condições apropriadas a cada um, não podendo inferir um impacto negativo ao nível do processo, estabilidade, segurança, eficácia e consequente qualidade. Assim, deverá ser estabelecido um período máximo de espera (*hold time*) para que um produto não prossiga para a etapa seguinte no caso de se encontrar adulterado. Esta informação deverá ser registada numa base de dados. No entanto, é de referir que estes estudos não são realizados para analisar o ponto de ruptura do produto <sup>[8]</sup>.

Sintetizando, estes estudos revelam a quantidade de tempo durante o qual o produto pode permanecer em espera até progredir para a próxima etapa. Os resultados dos testes devem ser coincidentes com as especificações do produto. Antes de iniciar o processo de amostragem é necessário definir tempos, ensaios e pontos críticos <sup>[13]</sup>.

### **1.10. Substâncias Activas e Excipientes**

Um dos factores que mais pode influenciar os parâmetros internos deste estudo ou qualquer outro estudo de estabilidade são as substâncias activas. Para poder compreender a importância deste factor é necessário entender o conceito de ingrediente ou substância activa. Segundo a WHO, "o ingrediente farmacêutico ativo (API) corresponde a qualquer substância utilizada num produto farmacêutico acabado (FPP), destinada a apresentar atividade farmacológica, a ter efeito direto no diagnóstico, cura, mitigação, tratamento ou prevenção de doenças ou que a ter um efeito direto em restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas em seres humanos".

De acordo com a definição protocolada em 2011, pré-misturas ou combinações de substâncias activas (tais como a Amoxicilina + Ácido Clavulânico) não podem ser consideradas como uma API. A partir do momento em que uma API é misturada com outra, ou até mesmo com um excipiente, já não pode ser considerada uma API <sup>[16]</sup>. Ainda assim, e por forma a facilitar a compreensão deste projeto, ainda que se trate de uma mistura, as substâncias irão ser denominadas de substâncias activas.

Também não seria possível continuar este projecto sem referir o conceito de excipiente. Geralmente não é possível preparar uma cápsula, pó oral ou comprimido sem a adição de um ou mais excipientes. Frequentemente o volume da substância activa é muito pequeno e a mistura em pó carece de um diluente; Pode acontecer que a substância activa não tenha uma boa fluidez pelo é necessária a adição de um lubrificante; ou até que uma preparação, que consista em apenas uma substância activa, não consiga desintegrar-se bem e por isso necessite de um agente de desintegração para melhorar a sua eficiência. Existem excipientes que conseguem combinar um grande número de funções. A sua utilização permite diminuir o uso excessivo de múltiplos excipientes e assim diminuir as potenciais interações entre materiais <sup>[8]</sup>.

### **1.11. Formas Farmacêuticas**

Pode dizer-se que uma forma farmacêutica corresponde ao estado final que as substâncias activas exibem após serem submetidas às operações farmacêuticas essenciais, não só para facilitar a sua administração mas também de maneira a obterem um maior efeito terapêutico. Foram desenvolvidas para facilitar a sua administração a diferentes pacientes com

faixas etárias distintas e com diferentes necessidades, permitindo uma maior eficácia. Estão também relacionadas com a via de administração mais indicada, isto é, a porta de entrada do medicamento no paciente. Cada forma de administração apresenta vantagens e desvantagens.

Estas podem variar desde formas sólidas e orais, como são os comprimidos, a formas injetáveis, como as vacinas. As vias de administração são distinguidas por oral, sublingual, intravenosa, cutânea e subcutânea, olfativa, oftálmica, auricular, respiratória, intratecal, vaginal e rectal.

As formas sólidas compreendem as formas extemporâneas; cápsulas, drageias, comprimidos (que podem ser ou não revestidos), comprimidos efervescentes, sublinguais, mastigáveis, orodispersíveis e/ou de acção lenta/prolongada. Já as formas farmacêuticas semissólidas incluem as pomadas, pastas, emulsões ou cremes, géis, aerossóis, supositórios e óvulos. Existem ainda as formas líquidas que, por sua vez, variam entre soluções orais, soluções estéreis, tinturas, extratos, xaropes, elixires e suspensões.

É também possível diferenciar os comprimidos em revestidos e para revestir. Aqui inserem-se os de compressão direta/granulação a seco e os de granulação húmida; e os comprimidos dispersíveis (orodispersíveis) desintegráveis (ODT). As cápsulas compreendem as cápsulas de enchimento com pó, com granulação húmida e as preenchidas com *pellets*.

Relativamente aos fármacos injetáveis, estes podem ser diferenciados em líquidos estéreis e pós para soluções injetáveis <sup>[15]</sup>.

Como é possível observar a partir da tabela 1.1 existem uma enorme variedade de formas farmacêuticas. Assim sendo, também a forma farmacêutica do produto pode influenciar o tipo de requisitos para um estudo de estabilidade. Um dos fatores que pode ser influenciado é o tempo de espera. Como exemplo, e mencionando apenas a via oral, os comprimidos, sobretudo os revestidos, têm uma maior capacidade de resistência a condições adversas o que permite maiores tempos de armazenamento. As suspensões, ou até mesmo os xaropes apenas toleram alguns dias de armazenamento.

Na presente dissertação só serão estudadas três formas, de apenas uma via de administração: comprimidos revestidos, suspensões orais extemporâneas e xaropes.

É necessário avaliar a estabilidade do produto e a facilidade que o mesmo tem em degradar-se para poder estipular o tempo de armazenamento. O mesmo acontece com o acondicionamento do produto.

Tabela 1-1 - Vias de administração e correspondentes formas farmacêuticas

Vias de administração	Formas Farmacêuticas
<b>Via oral</b>	Comprimidos, cápsulas, pastilhas, gotas, xaropes, suspensões, soluções
<b>Via sublingual</b>	Comprimidos sublinguais
<b>Via parentérica (injetável)</b>	Soluções e suspensões injetáveis
<b>Via cutânea</b>	Soluções tópicas, pomadas, cremes, loções, géis e adesivos
<b>Via olfativa</b>	<i>Sprays</i> e gotas nasais
<b>Via oftálmica</b>	Colírios e pomadas oftálmicas
<b>Via auricular</b>	Gotas auriculares ou otológicas e pomadas auriculares
<b>Via respiratória</b>	Aerossol
<b>Via vaginal</b>	Comprimidos vaginais, cremes, pomadas e óvulos
<b>Via rectal</b>	Supositórios e enemas
<b>Via intratecal</b>	Soluções injetáveis na espinal medula

### 1.12. Armazenamento das amostras

No armazenamento das amostras é necessário ter em conta alguns aspetos características dos produtos a analisar. De entre eles constam as condições de temperatura e humidade relativa idênticas às condições exibidas no armazenamento do produto a granel; o material de acondicionamento que deve também ser semelhante ao usado para armazenar o produto; e ainda a proporção de ocupação do contentor da amostra que deve ser idêntica à habitualmente utilizada <sup>[17]</sup>.

Todas estas condicionantes devem ser o mais semelhantes possíveis às condições utilizadas no decorrer do processo para que as amostras possam sofrer os mesmos efeitos que o produto a granel quando armazenado. Só assim a fidelidade do estudo pode ser garantida <sup>[8]</sup>.

A proporção de *headspace* para conteúdo em recipientes de teste deve ser pelo menos tão grande como o máximo que é possível na produção de rotina (especialmente tendo em recipientes de *part-filled* de conta). As condições ambientais para o armazenamento de amostra devem ser as mesmas que as da fase de fabrico/área de quarentena. A quantidade de amostra necessária deve ser calculada em função do tamanho do lote, dos intervalos de tempo estipulados e dos testes a executar. Cada amostra, correspondente a cada tempo a estudar (por lote), deve ser acondicionada em separado por forma a prevenir qualquer tipo de contaminação.

### 1.13. Fases de Processo

Os tempos a estudar dependem da forma farmacêutica do produto em causa e das suas fases críticas. No artigo sobre “*Hold Time Stability Studies in Pharmaceutical Industry: Review*”<sup>[13]</sup> são sugeridos exemplos de tempos de estudo e ensaios de acordo com a fase crítica, conforme indicado na tabela 1. 2. Nesta dissertação foram tidos em conta os exemplos referidos. Como é possível inferir, a consistência do produto também pode estar relacionada uma vez que a estabilidade pode ser maior quanto mais resistente for a amostra. Assim, enquanto uma mistura (granulado) apenas pode ser analisada durante 15 a 30 dias, um comprimido revestido pode ser armazenado para estudo durante 60 ou mais dias. Os ensaios, apesar de descritos na tabela seguinte, apenas serão discutidos no ponto 1.14.

*Tabela 1-2 - Etapas Críticas e tempos de estudo e ensaios associados a cada produto [13]*

Fase de estudo	Tempos de estudo	Ensaios
Mistura Final	7, 15 e 30 dias	Descrição, humidade e doseamento
Solução de Revestimento	Inicial, 12, 24, 36, 48 e 72 horas	Descrição
Solução Lubrificante	Inicial, 12, 24, 36, 48 e 72 horas	Descrição
Comprimidos sem Revestimento	Inicial, 7, 15, 30, 45 e 60 dias	Descrição, humidade, doseamento e dissolução
Comprimidos Revestidos	Inicial, 7, 15, 30, 45 e 60 dias	Descrição, humidade, doseamento, dissolução e microbiologia
Cápsulas Cheias	Inicial, 7, 15, 30, 45 e 60 dias	Descrição, humidade, doseamento, dissolução e microbiologia
Solução Pré-Filtração	Inicial, 12, 24, 36, 48 e 72 horas	Descrição, pH, água por ml e doseamento
Solução Filtrada	Inicial, 12, 24, 36, 48 e 72 horas	Descrição, pH, água por ml, doseamento e microbiologia
Solução final (injetáveis)	Inicial, 12, 24, 36, 48 e 72 horas	Descrição, pH, água por ml, doseamento e microbiologia
Pó Final (injetáveis)	Inicial, 12, 24, 36, 48 e 72 horas	Descrição, pH, água por ml, doseamento e microbiologia
Produto Final (pomadas, cremes e géis)	Inicial, 12, 24, 36, 48 e 72 horas	Descrição, pH, água por ml, doseamento e microbiologia

### 1.14. Ensaios

Os testes efetuados a cada amostra foram selecionados considerando os exemplos facultados pela tabela 1.2. No entanto, podem ser realizados outros ensaios com base na avaliação de risco e nas características específicas do produto.

Os ensaios mais recorrentes correspondem a ensaios de doseamento e dissolução no caso dos comprimidos, sejam eles revestidos ou para revestir; ensaios de pH em xaropes e suspensões; ou teor em água no caso de misturas dos pós ou granulados. Devem sempre ser incluídos ensaios de análise microbiológica.

Todos os ensaios realizados no decorrer desta dissertação serão descritos de uma forma mais exaustiva posteriormente no capítulo 2.2. Segue-se uma introdução explicativa ao método analítico mais utilizado no decorrer deste trabalho.

### **1.15. Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC)**

Um dos métodos mais utilizados é a cromatografia por isso é fundamental compreender esta técnica. HPLC é a abreviatura para Cromatografia Líquida de Elevada Performance ou de Alta Pressão (*High Pressure Liquid Chromatography*.) Desde há cerca de 35 anos, é a maior técnica de separação utilizada. É ideal para a separação de produtos químicos e compostos biológicos não-voláteis. Os produtos voláteis são habitualmente analisados por cromatografia gasosa ou *Gas Chromatography* (GC).

Esta técnica de separação envolve a injeção de um pequeno volume de amostra numa coluna empacotada com partículas porosas de 3 a 5 µm (fase estacionária) e onde os componentes individuais da amostra são transportados por uma fase móvel e forçados através da coluna pela alta pressão fornecida por uma bomba. Os componentes da amostra separam-se entre si por várias interações químicas e/ou físicas entre as moléculas e partículas que compõem o empacotamento da coluna. Depois de separados, são recolhidos e identificados por uma técnica de medição externa, seja ela um espectrofotómetro ou outro dispositivo que os quantifique <sup>[18]</sup>.

Na figura 2.1. estão representados e numerados todos os constituintes de um sistema de HPLC.

#### **Bomba (1)**

O papel da bomba é forçar a fase móvel através da coluna a uma taxa de fluxo específico, expresso em mililitros por minuto (ml/min). Por norma, a fase móvel circula a uma taxa de 1 a 2 ml/min. Pode alcançar pressões na faixa dos 6000-9000 psi (400 a 600-bar). Uma bomba pode distribuir uma composição constante de fase móvel (isocrática) ou uma composição variável (gradiente).

## Injetor (2)

O injetor serve para introduzir a amostra líquida na coluna, pode ser automático ou manual, ainda que nos dias de hoje seja frequente o injetor automático. Os volumes típicos são de 5 a 20 microlitros ( $\mu\text{L}$ ). Deve ainda ser capaz de resistir a altas pressões [19].

## Coluna (3)

Considerado o "coração do cromatógrafo", e como já referido anteriormente, a coluna separa os componentes da amostra de interesse usando vários parâmetros físicos e químicos. São as pequenas partículas dentro da coluna as responsáveis pela resistência à fase móvel e que elevam a pressão no cromatógrafo. Podem ser de três tipos: analítica [diâmetro interno 1.0 - 4,6 mm; comprimentos 15 – 250 mm]; preparativa (diâmetro interno > 4,6 mm; comprimentos 50-250 mm); capilar (diâmetro interno 0.1 - 1.0 mm; vários comprimentos); ou nano (diâmetro interno < 0.1 mm, por vezes indicada como < 100  $\mu\text{m}$ ).

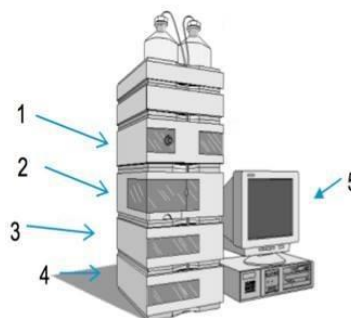


Figura 1.3 - Equipamento de HPLC;

[Fonte: HPLC Basics Fundamentals of Liquid Fundamentals of High Performance Liquid Chromatography [18]]

## Detetor (4)

O detetor avalia a quantidade de moléculas individuais que saem da coluna. Permite ao analista medir quantitativamente os componentes da amostra. O detetor fornece um sinal ao computador que resulta no cromatograma, ou seja, o gráfico de resposta. A figura 2.2. mostra um exemplo de um cromatograma de um líquido composto por 3 componentes: A, B e C. Os espectrofotômetros de UV são os mais utilizados no entanto existem outros como espectrofotômetros de fluorescência ou de massa [19].

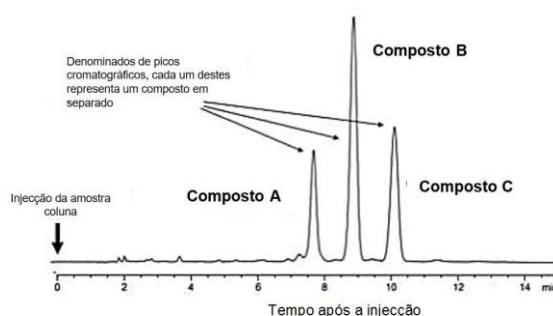


Figura 1.4 – Cromatograma, exemplo de uma substância com três compostos;

[Fonte: HPLC Basics Fundamentals of Liquid Fundamentals of High Performance Liquid Chromatography [18]]

## **Computador (5)**

Também chamado de base de dados, o computador não só controla todos os módulos do instrumento HPLC como também identifica e regista o sinal do detetor e o utiliza para determinar o tempo de eluição (tempo de retenção) dos componentes de amostra (análise qualitativa) e a quantidade de amostra (análise quantitativa) <sup>[18]</sup>.



## **2. Metodologia**

Numa primeira abordagem, procedeu-se à recolha de informações bibliográficas com o objetivo de adquirir conhecimentos necessários, de forma a poder tomar decisões relativas aos pontos críticos de cada produto bem como aos métodos de análise e tempos de espera.

Tratando-se de produtos cujo processo era conhecido, recolheu-se ainda informação a partir dos respetivos Registos de Lote (RL). Os RL forneceram dados sobre todo o processo de produção de cada um dos produtos. Além de um conhecimento profundo do processo, seria necessário proceder a uma pesquisa relativa aos métodos escolhidos e acerca da forma através da qual complementaríamos o estudo.

Sempre que um produto não se enquadre nos limites especificados é necessário averiguar quais as possíveis causas e realizar todos os testes possíveis para corrigir o problema, caso este seja identificado.

Por forma a compreender como foram obtidos os resultados apresentados é importante compreender todos os processos e métodos analisados.

### **2.1. Cromatogramas**

Antes de compreender as técnicas envolvidas neste processo é necessário entender e saber como analisar um cromatograma. No tópico 1.14. foi descrito o funcionamento do método de HPLC e como tal foi referido que o resultado se apresenta sob a forma de um gráfico de resposta: um cromatograma. Para poder prosseguir com o trabalho é necessário compreender e interpretar um cromatograma de maneira a conseguir interpretar os resultados das técnicas referidas mais à frente.

Existem então duas formas de o interpretar: por determinação da altura do pico medido na linha de base ou por determinação da área de pico. Ainda assim, primeiro é necessário identificar os picos.

A forma mais simples para atribuir picos no cromatograma de uma solução de amostra é injectar soluções-padrão em condições idênticas como demonstrado na figura 2.1. É importante que a concentração da solução-padrão corresponda à solução da amostra tanto quanto possível. Comparando o factor de retenção ( $k$ ) e a resposta do pico no cromatograma da solução-padrão, com o cromatograma da amostra, os picos podem assim ser identificados.

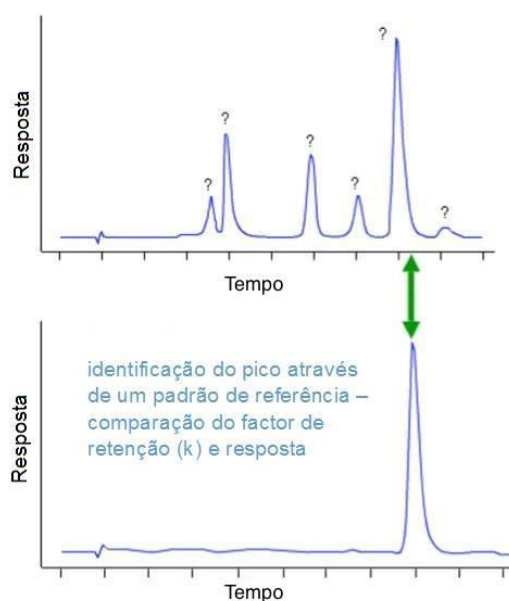


Figura 2.1 – Utilização de padrões de referência para a identificação do pico;

[Fonte: Crawford Scientific. (2014). Quantitative & Qualitative <sup>[20]</sup>

O *spiking* é uma outra técnica também utilizada para a identificação de picos. Esta envolve a adição de um padrão de referência conhecido a fim de confirmar a identidade de um dos picos de amostra do componente.

No caso explicitado na figura 2.2, um dos picos da amostra é suspeito de ser insulina. À amostra é adicionado padrão de insulina, aproximadamente na mesma concentração que os componentes da amostra. Se qualquer um dos picos no cromatograma ficar com maior amplitude, então esse pico corresponderá à insulina. Se um novo pico cromatográfico for observado, ou se qualquer um dos picos desenvolver um 'ombro', então é improvável que qualquer um dos picos no cromatograma seja devido a insulina dentro da amostra.

Relativamente à pureza dos picos, esta pode ser estabelecida através dos sinais obtidos para diversos comprimentos de onda. Se o pico for puro, então a relação o sinal detectado deverá ser constante para todos os comprimentos de onda. Se o pico for impuro, o mesmo não irá acontecer. [20].

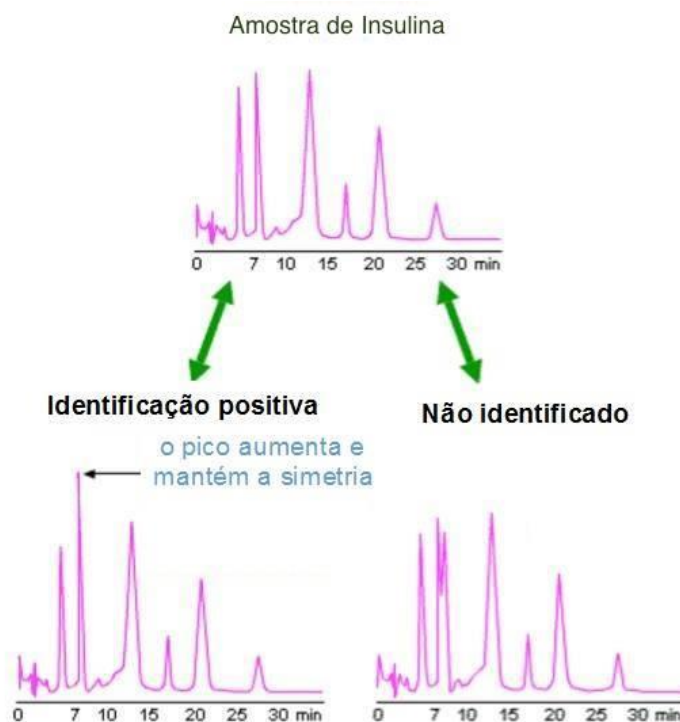


Figura 2.2 - Técnica de spiking para identificação de picos;

[Fonte: Crawford Scientific. (2014). Quantitative & Qualitative [20]]

Não é possível descrever a técnica de HPLC ou análises cromatográficas sem mencionar uma necessidade de uma adequabilidade do sistema. Existem uma série de parâmetros que permitem avaliar esta adequabilidade ou "*system suitability*" colocando em evidência a reprodutibilidade do método. Os parâmetros geralmente requeridos são a eficiência da coluna que pode ser analisada através do factor de resolução, número de pratos, factor de assimetria ou *tailing factor* e ainda o factor de capacidade; o tempo de retenção relativo e ainda a repetibilidade das áreas[21].

Considera-se obrigatória a execução e cumprimento destes parâmetros. A ocorrência de desvios pode ser aceite desde seja documentada e corretamente justificada.

### 2.1.1. Factor de Resolução

Como já foi referido, este parâmetro serve para avaliar a eficiência da coluna analisando a separação entre dois picos e é expresso na equação 1. O  $t_1$  e  $w_1$  são referentes à primeira substância e o  $t_2$  e  $w_2$  à segunda.

$$R = \frac{2 * (t_2 - t_1)}{w_1 - w_2}, \quad \text{equação 1}$$

$t$  – tempo de retenção

$w$  – largura do pico determinada pela linha de base

### 2.1.2 Número de Pratos Teóricos

A eficiência aparente ou performance da coluna pode também ser calculada por este factor. Varia consoante o componente a separar, a coluna e o tempo de retenção. [20] A fórmula associada é a seguinte:

$$N = 5,54 * \left( \frac{t_r}{w_h} \right)^2, \quad \text{equação 2}$$

$t_r$  – tempo de retenção correspondente ao considerado

$w_h$  - largura do pico a meia altura

### 2.1.3. Factor de Assimetria ou *Tailing Factor*

Este parâmetro permite avaliar a eficiência da coluna, tal como os restantes mencionados até então. A variação da concentração do soluto na fase estacionária com a concentração do soluto na fase móvel, a temperatura constante, é designada como isotérmica de adsorção. Em teoria esta curva assumiria uma isotérmica linear. Nestas condições o tempo de retenção é independente da concentração da amostra e o pico move-se a uma velocidade constante. Se a isotérmica é não linear, o coeficiente de distribuição não é constante varia com

a concentração do soluto e existe uma distribuição de velocidades ao longo do pico a qual é descrita como um *tailing* ou *fronting* [22].

A fórmula para o cálculo do factor de assimetria corresponde à equação 3. Quando o factor é superior a 1 o pico ocorre o fenómeno de *tailing*, ou de apresenta um arrastamento terminal, e se for inferior a 1 o fenómeno de *fronting*, ou dispersão inicial [23]. Na figura 2.3. é possível compreender os parâmetros envolvidos no cálculo deste factor e na figura 2.4. verificar a influência da assimetria no pico.

$$T = \frac{W_{0,05}}{2d}, \quad \text{equação 3}$$

$W_{0,05}$  – largura do pico a 5% da sua altura

$d$  – distância entre o início do pico e a perpendicular à linha de base, traçada desde o máximo do pico, calculada a 5% da sua altura

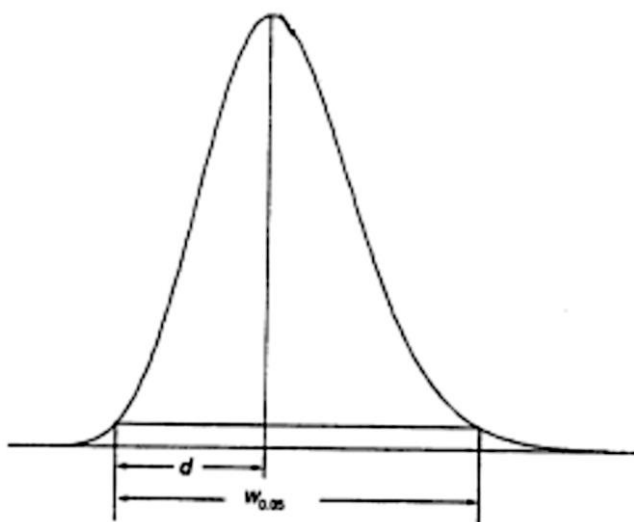


Figura 2.3 – Imagem representativa dos parâmetros utilizados no cálculo de Factor de Assimetria;

[Fonte: British Pharmacopoeia [23]]

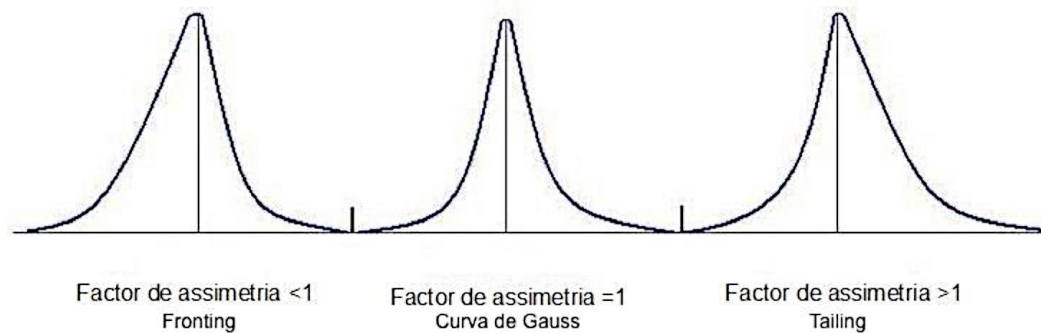


Figura 2.4 – Influência da simetria do pico;

[Fonte: Chromatographytoday]

#### 2.1.4. Factor de Capacidade ou Tempo de Retenção

Quando não existe outro pico para além da substância em análise, calcula-se o factor de capacidade:

$$FC = \frac{t - t_0}{t_0}, \quad \text{equação 4}$$

$t$  – tempo de retenção do pico da substância em análise

$t_0$  – tempo de retenção do pico do solvente (pico não retido)

#### 2.1.5. Tempo de Retenção Relativo

Este critério é expresso em relação a uma substância de referência ( $t_1$ ) sendo desta forma relativo. Permite a obtenção de informações relevantes sobre o método analítico.

$$RRT = \frac{t_2}{t_1}, \quad \text{equação 5}$$

$t_1$  – tempo de retenção do pico de referência

$t_2$  – tempo de retenção do pico a caracterizar

### 2.1.6. Repetibilidade das Áreas

Este parâmetro pode ser determinado através do desvio padrão relativo. A verificação é feita através da injeção de um padrão de referência (geralmente 5 ou 6 vezes) no início de um ensaio. O cálculo é feito tendo em conta as áreas de cada pico, correspondentes a cada injeção do padrão de referência. O desvio ou RSD deve ser inferior a 2%.

Além destes critérios já mencionados, é necessário garantir que o sistema mantenha a sua adequabilidade durante todo o ensaio. A cada 2 horas ou após 6 injeções de produto a analisar, deve ser injetada novamente uma amostra padrão ou referência e em duplicado. Se, relativamente à sequência inicial, o factor de resposta entre os valores médios das diferentes sequências da solução referência variar entre os 98% e os 102%, o sistema é fiável.

Caso se verifique uma tendência uniforme, seja ela de descida ou subida da resposta da solução padrão, e que seja explicável por ligeiras alterações das condições analíticas, como a temperatura, pode utilizar-se a média das respostas entre duas soluções de referência sequenciais para efetuar os cálculos em causa para as soluções amostra.

É de mencionar que o tempo de corrida deve cobrir todo o tempo de eluição dos componentes de forma a prevenir o aparecimento de picos da injeção anterior <sup>[20]</sup>.

## 2.2. Técnicas

Uma vez compreendida a importância de um cromatograma e a sua leitura, é possível prosseguir para as técnicas utilizadas. Sendo o passo mais importante para um estudo de estabilidade, é fundamental a sua compreensão pois só desta forma é possível obter resultados fidedignos.

### 2.2.1. Doseamento

Este ensaio é realizado por forma a avaliar se o princípio(s) ativo(s) do produto está presente na dosagem pretendida. Existem diferentes metodologias, no entanto os métodos cromatográficos são os mais utilizados como métodos de doseamento.

O HPLC apresenta boa sensibilidade e baixa vulnerabilidade a interferências. No entanto apresenta uma condicionante: o produto tem necessariamente que ser solúvel num solvente cromatográfico ou numa mistura de solventes e detetável pelo sistema de detecção para que o método possa ser aplicado.

Neste ensaio são sempre utilizadas duas tomas de cada amostra para que se possa realizar uma média dos resultados e garantir a fidelidade da análise em questão. Para isso é calculado o teor em (%) e em mg/comprimido:

$$Teor (\%) = \frac{[Padrão (mg/ml)] * Área_{amostra} (mAU) * Massa média (mg)}{[Amostra (mg/ml)] * Área_{padrão} (mAU) * Dosagem (mg)} * 100\% , equação 6$$

em que,

$$[Padrão] = \frac{Toma do Padrão (mg) * Pureza (\%)}{Diluição (ml)}$$

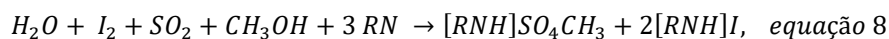
$$[Amostra] = \frac{Toma do Amostra (mg)}{Diluição (ml)}$$

$$Teor \left( \frac{mg}{comprimido} \right) = \frac{Teor(\%) * dosagem (mg)}{100} , equação 7$$

Este teor em percentagem deve estar inserido dentro de um limite superior, USL, e inferior, LSL. Caso não aconteça, o produto encontra-se fora de especificação.

### 2.2.2. Humidade (teor em água)

O teor em água ou a humidade da amostra é analisado pelo método Karl-Fischer (Figura 2.5). Consiste na reacção da água com uma solução de iodo e anidrido sulfuroso em piridina e metanol e termina quando se observa uma mudança de cor de amarelo para âmbar ou seja, quando toda a água é consumida <sup>[24]</sup>. Isto é fácil de observar através equação 8 <sup>[25]</sup>.



Uma vez que o método mais recorrente é o volumétrico, é também o abordado nesta dissertação, procede-se sucintamente a uma abordagem do seu funcionamento.



Na titulação volumétrica, o iodo necessário para a reacção com a água é previamente dissolvido, sendo que o teor de água será determinado pela quantidade de iodo consumido como resultado da reacção com a água presente na amostra. É o método mais apropriado para amostras com quantidade em água desde 100 ppm até 100%.

O equipamento é constituído por vários componentes como demonstra a figura 2.5. Geralmente o aparelho consiste numa bureta automática, um balão de titulação de volta, um misturador e um equipamento de titulação. Uma vez que o conteúdo de água é extremamente higroscópico, a bureta deve ser protegida da humidade atmosférica através de gel de sílica ou de cloreto de cálcio. Pode ser uma reacção com um ou dois componentes. É o método mais utilizado por ser o mais rápido e simples. As amostras sólidas podem ser directamente introduzidas após ser pesadas, para limitar a exposição atmosférica. Já as amostras líquidas devem ser adaptadas para evitar a absorção de humidade atmosférica [26].



Figura 2.5 - Equipamento Karl-Fisher;

[Fonte: Medicalexpo]

$$\text{Água (\%)} = \frac{\text{Volume (ml) Reagente KF consumido} * \text{factor de água equivalente} \left( \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right)}{\text{Massa (mg) de amostra}} * 0,1$$

equação 9

onde,

$$\text{factor de água equivalente (f)} = \frac{\text{Massa (mg) de Água presente na aliquota}}{\text{Volume (ml) de Reagente de KF utilizado}}$$

O maior interesse deste ensaio reside em saber qual o teor em água existente num granulado, para que a etapa de compressão ocorra de forma uniforme. Por norma, a humidade dos pós medicamentosos assume valores baixos. No presente trabalho, esse valor máximo foi de 10,5%. Também neste ensaio foram realizadas duas tomas e analisada a média de ambas para que o resultado fosse de confiança.

### 2.2.3. Dissolução

Este ensaio garante que cada lote de um medicamento apresente a mesma biodisponibilidade. A biodisponibilidade é definida pelo Infarmed como um termo farmacocinético que descreve a velocidade e o grau com que uma substância activa (ou a sua forma molecular terapeuticamente activa) é absorvida a partir de um medicamento e se torna disponível no local de acção. A avaliação da biodisponibilidade é realizada com base em parâmetros farmacocinéticos calculados a partir dos perfis de concentração plasmática do fármaco ao longo do tempo [27].

Para isso é necessário submeter um número de unidades do produto, geralmente 6, individualmente, a um conjunto de condições previamente definidas, medindo a quantidade de substância activa libertada em função do tempo [28]. Como é possível observar a partir da figura 2.6, o equipamento é composto por vários copos e meios de agitação que podem ser pás ou cestos. As amostras são introduzidas nestes copos cilíndricos com um meio de dissolução apropriado a cada amostra e tapados de maneira a evitar a evaporação [29].



*Figura 2.6 - Equipamento de dissolução;*

*[Fonte: directindustry]*

Para esta avaliação pode ser utilizado o método cromatográfico de HPLC que, da mesma forma que no doseamento, irá revelar a concentração da substância no momento pretendido. No entanto a fórmula utilizada para calcular o teor (%) está enunciada na equação 10.

$$Teor (\%) = \frac{[Padr\tilde{a}o] * \acute{A}rea_{amostra}}{[Amostra] * \acute{A}rea_{padr\tilde{a}o}} * 100\%, \quad \text{equa\c{c}\~ao 10}$$

em que,

$$[Padr\tilde{a}o] = \frac{Toma\ do\ Padr\tilde{a}o\ (mg) * Pureza\ (\%)}{Dilui\c{c}\~ao\ (ml)}$$

$$[Amostra] = \frac{Dosagem\ (mg)}{Volume\ do\ Meio\ de\ Dissolu\c{c}\~ao\ (ml)}$$

Exactamente como num ensaio de doseamento, é injectada um padrão de referência a fim de garantir a adequabilidade do sistema. No entanto, no que diz respeito à injeção da amostra, não sucede da mesma forma. Neste ensaio, são injectadas não 2 tomas por amostra mas sim 6 ou as correspondentes ao número de unidades de produto analisadas. Por fim é realizada uma média que permite uma maior fidelidade ao ensaio.

#### 2.2.4. pH

Este ensaio é realizado de forma simples, por um medidor de pH (figura 2.7). Permite saber se o pH da amostra se encontra dentro dos limites delineados para o produto em questão. Um pH errado pode ser extremamente prejudicial para o paciente. Um pH errado pode ter influência em parâmetros como:

- Solubilidade. Quando o pH de um medicamento é um ácido ou base fraca, o pH da solução afecta sua solubilidade. Um aumento do pH implica um aumento da solubilidade no caso de ácidos fracos bem como um decréscimo do pH pode influenciar um aumento da solubilidade no caso de bases fracas;
- Estabilidade. O pH da solução pode afetar a taxa de degradação do medicamento. O pH para o qual o medicamento é mais estável pode variar;
- Permeabilidade da droga através de membranas biológicas. O pH pode influenciar a extensão da ionização de um medicamento. Um medicamento na forma não-ionizada é mais permeável do que na sua forma ionizada;

- Irritação dos tecidos. O pH de uma solução farmacêutica não deve ser muito ácido ou muito básico. Quanto mais afastado o pH da solução for do pH fisiológico (7,4) maior a irritação. Consoante os tecidos que estiverem em contato com a solução o pH pode estar mais próximo ou afastado de 7,4 [30].



Figura 2.7 - Equipamento de medição de pH;

#### 2.2.5. Densidade Inicial e Densidade Batida

O ensaio que permite analisar a densidade inicial e batida, consiste em inserir uma determinada quantidade de um produto numa proveta e introduzir o valor correspondente ao seu volume num equipamento especializado para este tipo de ensaios (figura 2.8). Este equipamento por sua vez realiza batimentos constantes duas vezes consecutivas. No final de cada ronda é necessário introduzir novamente o valor correspondente ao volume lido na proveta. No final deste procedimento o equipamento calcula a densidade batida, inicial, índice de compressão e rácio de *Hausner*. As fórmulas para o cálculo destes valores estão enunciadas nas equações 11 e 12.

$$\text{Rácio de Hausner} = \frac{\rho_T}{\rho_B}, \quad \text{equação 11}$$

$$\text{Índice de Compressão} = 100 * \left( \frac{\rho_T - \rho_B}{\rho_T} \right), \quad \text{equação 12}$$

$\rho_T$  – Densidade batida;

$\rho_B$  – Densidade inicial



*Figura 2.8 Equipamento utilizado na medição de densidades;*

[Fonte: Capplustech]

#### 2.2.6. Granulometria

O ensaio de granulometria corresponde à distribuição, em percentagem, dos diversos tamanhos de grãos de uma amostra. Permite a determinação das dimensões das partículas do agregado e das suas respectivas percentagens de ocorrência. É possível conhecer a distribuição granulométrica do agregado e representá-la através de uma curva. Este tipo de ensaio possibilita a determinação das características físicas da amostra pretendida. O equipamento utilizado (figura 2.9), denominado por agitador de peneiros ou tamises, consiste numa série de peneiros com malhas de diversos tamanhos diferentes que vibram numa determinada frequência durante um tempo selecionado. Uma vez que o peso

inicial dos tamises é conhecido bem como o peso da amostra introduzida, é possível determinar a percentagem de amostra presente em cada um.



*Figura 2.9 Agitador de peneiros ou tamises;*

[Fonte: Bertel]

### 2.2.7. Contaminação Microbiana

Todos os ensaios realizados para a contagem microbiana são da responsabilidade do Gabinete de Microbiologia. São fundamentais na produção de medicamentos e produtos biológicos. É um processo importantíssimo pois qualquer erro pode ter implicações cruciais no produto final. A presença de bactérias patogênicas, leveduras, bolores ou toxinas bacterianas produzidas por microorganismos é estritamente regulamentada para garantir a prevenção de riscos. Os testes são rigorosos e seguem as orientações dirigidas pela Farmacopeia. Esta palavra deriva da expressão *pharmakopoiia* que significa preparação de drogas e medicamentos. Corresponde a um conjunto de instruções para a identificação de compostos, denominados de monografias. O controlo microbiológico ambiental é uma parte fundamental da avaliação das instalações de produção farmacêutica. Devem ser aplicadas diretrizes claras, acompanhadas por procedimentos de limpeza e higiene, de forma a enfatizar que o controlo da contaminação microbiológica é um factor chave das GMPs. O envolvimento multifuncional de intervenientes na produção (técnicos e operadores), engenharia, garantia e controlo da qualidade deve ter uma responsabilidade colectiva para garantir que os sistemas de qualidade sejam assegurados por forma a garantir um controlo microbiológico <sup>[31]</sup>.

## 2.3. Protocolos

Deve existir sempre uma monografia corresponde a cada produto a analisar, o registo do lote e um protocolo de *Hold Time Studies*. Mais concretamente no protocolo de HTS devem constar os seguintes tópicos:

- |                                 |                      |
|---------------------------------|----------------------|
| • Descrição do material         | • Tipo de recipiente |
| • Quantidades amostradas        | • Resultados         |
| • Tempos de amostragem/ análise | • Conclusões         |
| • Métodos de análise            | • Recomendações      |
| • Critérios de aceitação        | • Assinaturas        |
| • Condições de armazenagem      | • Datas              |

São todos estes componentes que permitem ter uma documentação completa sobre o produto e os seus tempos de espera. Desde as condições necessárias para os realizar, os seus limites até aos resultados para nada falhar neste processo <sup>[32]</sup>.

## 2.4. OOS (Out Of Specification)

Durante a análise de um produto farmacêutico, seja no corrente caso de *hold time studies* ou outro, existe a possibilidade de o resultado não estar dentro dos limites de especificação. Surge então a necessidade de criar um documento OOS. Segundo a MHRA (*Regulating Medicines and Medical Devices*) o conceito de um resultado OOS aplica-se a um resultado que não esteja dentro dos limites pré-determinados. No entanto existem conceitos similares. Por exemplo, um resultado OOT, ou *Out Of Trend*, aplica-se a resultados que não correspondam a uma tendência expectável. Geralmente surgem no decorrer de um estudo de estabilidade. Os resultados podem ainda ser considerados atípicos ou anómalos quando, apesar de estarem dentro dos parâmetros desejados, não correspondem ao pretendido [33].

Segundo o que foi mencionado anteriormente, uma investigação por OOS surge sempre que um resultado não se insere dentro dos critérios de aceitação ou limites de especificação [34]. Devem ser sempre realizados em situações como:

- Lotes para estudos clínicos
- Estudos de estabilidade em produtos no mercado
- *In Process Control* (IPC)
- Testes para libertação de lotes

O propósito de uma investigação por OOS é determinar a causa do resultado. A fonte deve ser identificada e é classificada como um erro analítico ou um erro de produção. O facto de um lote ser rejeitado não exclui a necessidade de uma investigação. Para ser precisa, a investigação deve ser completa, imparcial, apropriada e bem documentada [35]. Como é possível examinar através da figura 2.10, o procedimento a seguir inicia-se na primeira fase de investigação I a) que pode ser interpretada como da “responsabilidade do analista”. É necessário investigar se a causa é óbvia e o erro se deve a uma circunstância externa. Esses erros podem ser de cálculo analítico, falha de energia ou do equipamento, erros de preparação durante o ensaio ou até de calibração dos instrumentos utilizados. Caso o erro tenha ocorrido por algum destes motivos, deve ser imediatamente reportado ao supervisor do sector e documentado. Caso contrário o procedimento segue para a próxima fase.

Numa fase posterior I (b) é necessário averiguar qual possa ter sido a causa, tanto pelo analista como pelo seu supervisor. A lista é extensa mas inclui alguns passos vitais como:

- Metodologia correta
- Amostragem realizada de acordo com o protocolo
- Material de acondicionamento correto

- Possíveis contaminações
- Material adequado
- Equipamento/Reagentes calibrados e dentro da validade

Quando a causa não se encontra dentro destas possibilidades segue-se para a etapa II onde existem dois procedimentos a seguir:

- Repetição do ensaio
- Repetição da amostragem

Segundo as exigências da FDA, a repetição do ensaio deve ser realizada por outro analista qualificado e o ensaio deve se realizado para a mesma amostra caso não tenha sido comprometida e ainda esteja disponível. Relativamente à reamostragem, esta deve ser realizada em último recurso no entanto, existem situações que exigem este procedimento<sup>[34]</sup>.

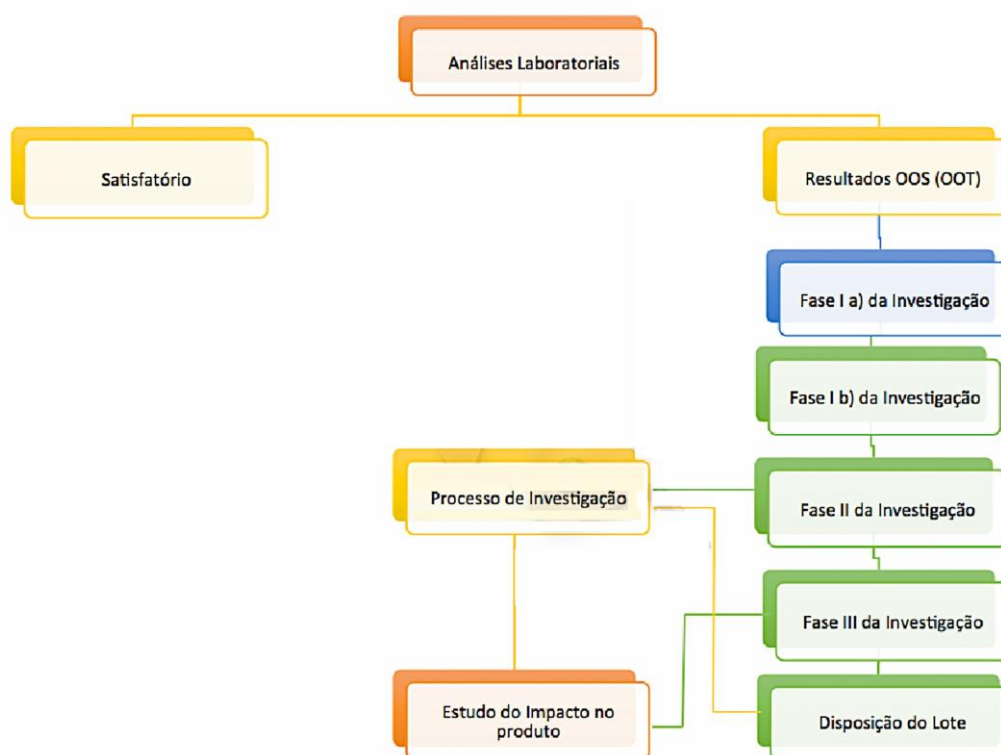


Figura 2.10 - Representação esquemática do procedimento de uma investigação OOS;

[Adaptado: Out Of Specification Investigations. (2013) <sup>[32]</sup>]



Por último, e caso seja necessário, devem ainda ser realizados ensaios extra na medida em que pode não ser possível descobrir a causa através dos procedimentos já descritos. Para isso, e após um resumo de todas as tentativas abordadas até então, deve ser feita uma investigação mais alargada, fase III, que abranja todo o processo de produção.

A causa pode ser determinada ou a investigação pode ser declarada inconclusiva. Em ambos os casos os resultados devem ser sempre reportados e bem documentados e resulta na sua rejeição.



### 3. Apresentação e Discussão de Resultados

Foram seleccionados 4 produtos: produto A, B, C e D. A tabela abaixo (tabela 3.1) descreve sucintamente as condições de armazenamento de cada um, mais concretamente as medidas de temperatura e humidade relativa a seguir. Posteriormente, e de acordo com as formas farmacêuticas de cada um, serão abordadas as técnicas a utilizar, os tempos de estudo e as etapas críticas do processo.

*Tabela 3-1 - Temperatura e humidade relativas adequadas para o armazenamento de cada produto intermédio*

Produto	Temperatura	Humidade
<b>A</b>	$\leq 5^{\circ}\text{C}$	---
<b>B</b>	$\leq 5^{\circ}\text{C}$	---
<b>C</b>	$\leq 25^{\circ}\text{C};$	$\leq 65\% \text{ HR}$
<b>D</b>	$\leq 25^{\circ}\text{C};$	$\leq 65\% \text{ HR}$

Tal como foi referido, de acordo com as suas formas farmacêuticas, é necessário deliberar os tempos de análise, os procedimentos a realizar e as fases críticas do processo a analisar. O artigo mencionado no ponto 1.13 serviu de base em todas as decisões. A tabela 3. 2 resume todos os critérios deliberados em função de cada produto: etapas críticas, tempos a estudar por etapa crítica, técnicas apropriadas e o acondicionamento correcto em função do produto em questão. É possível observar que o ensaio mais utilizado é o de doseamento; Também é possível verificar que a última etapa crítica de cada processo é a única que exige controlo microbiano; Além disso também é de referir que, à excepção do produto C (líquido) todos os outros são armazenados em saco duplo de polietileno dentro de contentor de plástico.

Tabela 3-2 - Resumo explicativo das condições para os Hold Time Studies de cada produto

Produtos	Etapas Críticas	Tempos (em dias)	Técnicas	Acondicionamento
<b>A</b>	Mistura Final	0, 7 e 14	Doseamento e Humidade	Saco duplo de polietileno dentro de contentor de plástico
	Comprimidos para Revestir	0, 30 e 90	Doseamento e Dissolução	
	Comprimidos Revestidos	0, 3, 30, 90 e 180	Doseamento, Dissolução e Contaminação	
			Microbiana	
<b>B</b>	Mistura Final	30 e 60	Doseamento, Humidade e Contaminação	Saco duplo de polietileno dentro de contentor de plástico
			Microbiana	
<b>C</b>	Mistura Final	0, 7 e 14	Doseamento e Humidade	Saco duplo de polietileno dentro de contentor de plástico
	Comprimidos para Revestir	0, 30 e 90	Doseamento e Dissolução	
	Comprimidos Revestidos	0, 30, 90 e 180	Doseamento, Dissolução e Contaminação	
			Microbiana	
<b>D</b>	Solução por Filtrar Solução Filtrada		Doseamento e pH	Reservatórios de aço inox
		0, 4, 10 e 15	Doseamento e pH e	
		0, 4, 10 e 15	Contaminação	
			Microbiana	

### 3.1. Produto A

O primeiro produto corresponde a uma forma sólida e de administração oral e, sendo um comprimido revestido, a sua forma final resulta da compressão de duas substâncias químicas na forma de pós ou grânulos, revestida por uma solução. O revestimento é uma solução necessário numa variedade de casos. Pode ser necessário em situações em que os fármacos em contacto com o líquido ácido do estômago são destruídos e perdem a sua acção terapêutica; para mascarar sabor e aspectos visuais desagradáveis dos comprimidos; para proteger o núcleo da humidade e melhorar assim a sua estabilidade; é necessário um revestimento nos casos em que os fármacos são agressivos para a parede e mucosa gástrica; ou até mesmo para fornecer propriedades de libertação modificada aos comprimidos. Resumindo, é a solução de revestimento que garante a passagem íntegra do medicamento pelo estômago para que chegue ao intestino onde é absorvido e irá iniciar aí a sua acção terapêutica.

Acerca do produto em particular, é de referir que tem uma acção antibiótica e actua neutralizando as bactérias geradoras da infeção. Como já foi mencionado, este produto contém duas substâncias activas diferentes, a SA A e a SA B. Enquanto a primeira pertence a um grupo conhecido por “penicilinas”, o segundo componente previne que o primeiro, quando as bactérias criam resistências, seja impedido de atuar, acabando por se tornar inativo.

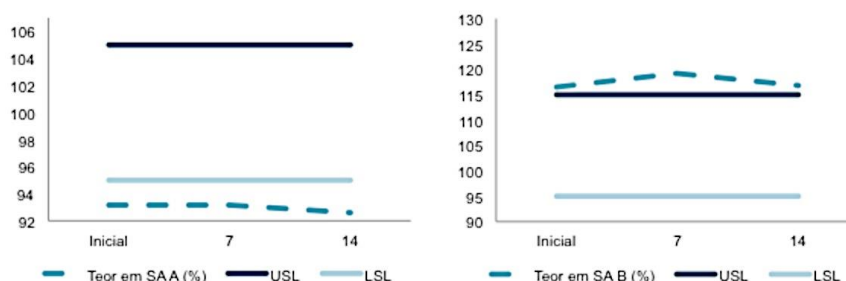
As fases críticas deste processo compreendem a etapa de mistura final, os comprimidos para revestir e os comprimidos revestidos. Além disso, por ser um produto composto por duas substâncias activas, foi necessário ter em atenção os limites de especificação para ambas, por forma a garantir a qualidade do produto durante todos os estádios. Por fim, o que tornou este produto muito vulnerável foi o facto de uma das substâncias (SA B) se degradar com muita facilidade. Assim sendo, as condições de armazenamento são fundamentais para garantir a sua qualidade.

### 3.1.1. Mistura Final

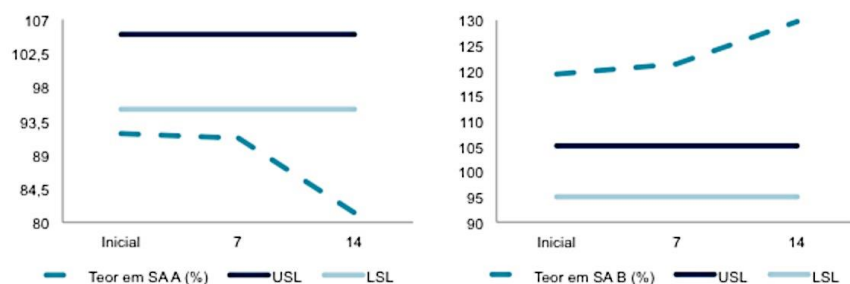
Para a mistura final, as técnicas mais indicadas para assegurar que as características do produto se mantêm dentro das especificações do produto são o doseamento e o teor em água. Foi utilizada a cromatografia líquida em HPLC para o ensaio de doseamento para verificar que as substâncias activas estão presente na dosagem pretendida e o método de Karl Fisher para avaliar o teor em água, ou humidade, se mantenham inferior ao limite estipulado. Assim, para cada produto e ensaio, existem limites superiores e inferiores ou, como indicado nas figuras, USL e LSL (Upper Specification Limit e Lower Specification Limit). Os valores encontrados para os ensaios a realizar devem encontrar-se dentro dos limites.

### Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

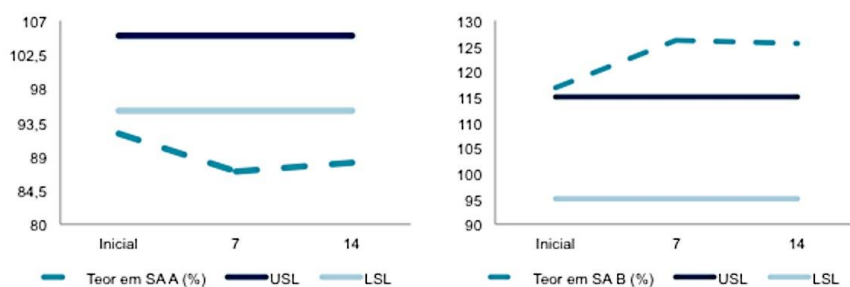
Como é possível verificar a partir da observação analítica das figuras 3.1, 3.2. e 3.3, os resultados obtidos para o ensaio de doseamento não corresponderam ao expectável. No entanto a análise destes resultados faz parte da investigação elaborada no ponto 3.5. Após a investigação mencionada, outros três lotes foram analisados produzindo resultados conformes (ver figura 3.40, 3.41 e 3.42).



Figuras 3.1 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias para as SA A e SA B do lote D067



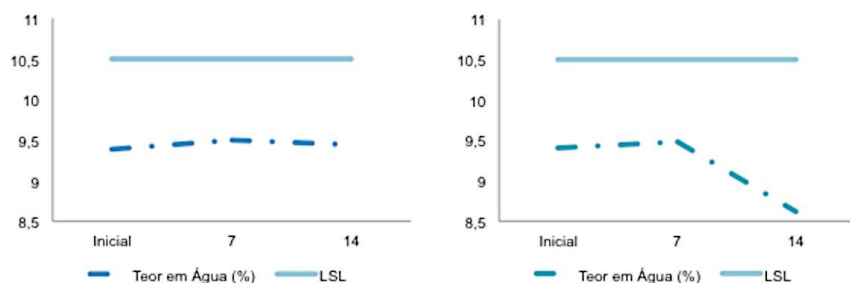
Figuras 3.2 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias para as SA A e SA B do lote D068



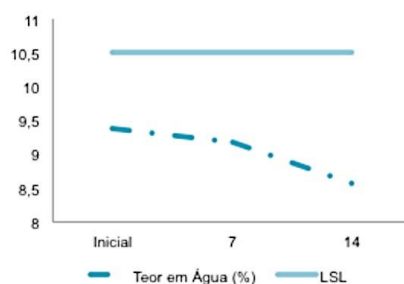
Figuras 3.3 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias para as SA A e SA B do lote D069

### Resultados obtidos para o ensaio de humidade

É possível observar que, relativamente aos resultados dos ensaios de Karl Fischer explicitados nas figuras 3.4 e 3.5, os valores se mantiveram relativamente constantes (com um decréscimo máximo de 1%) o que pode revelar que seria de esperar que esta tendência constante se mantivesse caso o estudo continuasse por mais tempo. A SA A, presente neste produto, é uma substância tri-hidratada o que faz com o teor em água tenda a não se alterar.



Figuras 3.4 (A) e (B) - Resultados do ensaio de Karl-Fischer no decorrer de 14 dias para os lotes D067 (A) e D068 (B)



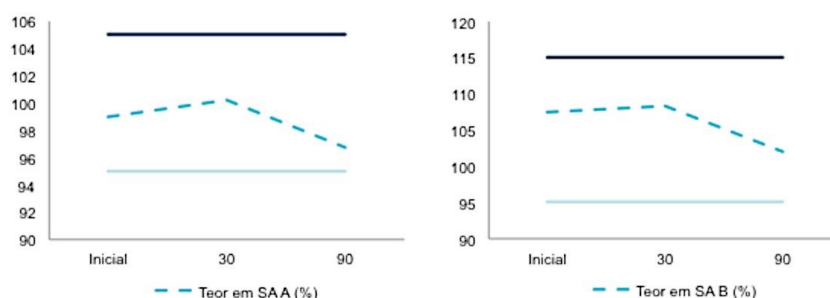
Figuras 3.5 - Resultados do ensaio de Karl-Fischer no decorrer de 14 dias para o lote D069

### 3.1.2. Comprimidos para Revestir

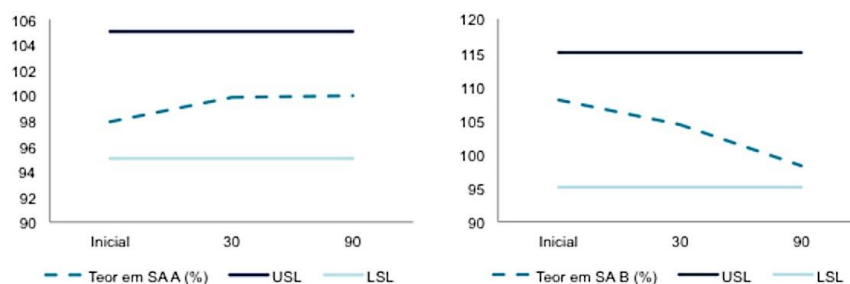
Tanto para os comprimidos para revestir como para os comprimidos revestidos, as técnicas mais utilizadas são o Doseamento e a Dissolução. Foi utilizada a cromatografia líquida em HPLC para ambos os ensaios.

#### Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

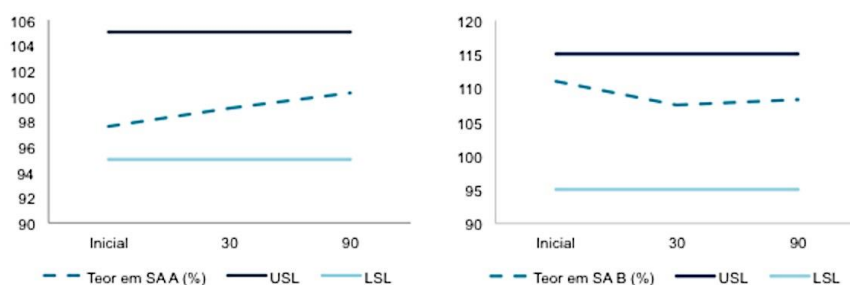
Uma nota a assinalar é a tendência que a substância activa B tem a degradar-se com facilidade. Isso é visível nas figuras 3.6 a 3.8 correspondente ao ensaio de doseamento dos comprimidos para revestir e nas figuras 3.12 a 3.14 dos comprimidos revestidos que se encontram nos pontos 3.1.1 e 3.1.2. É essa facilidade de degradação que leva a concluir que o produto A pudesse não consegue manter-se estável durante todo o estudo sobretudo no caso dos comprimidos revestidos. No entanto, o produto A tem uma estabilidade de 14 dias para a mistura final (confirmada no ponto 3.5), de 90 dias para os comprimidos para revestir e de 180 para os comprimidos revestidos. Assim é possível garantir a sua qualidade durante todos os tempos estipulados.



Figuras 3.6 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias para as SA A e SA B do lote D067



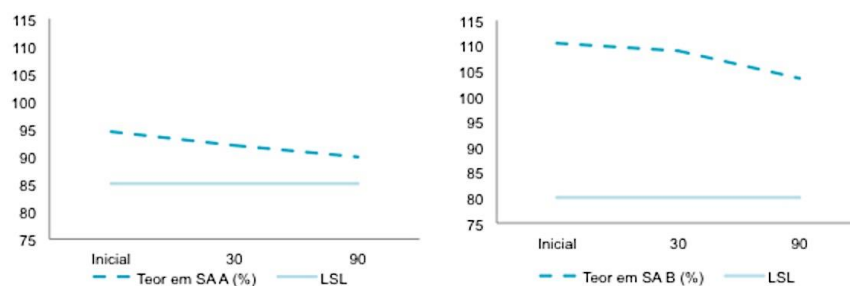
Figuras 3.7 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias para as SA A e B do lote D068



Figuras 3.8 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias para as SA A e SA B do lote D069

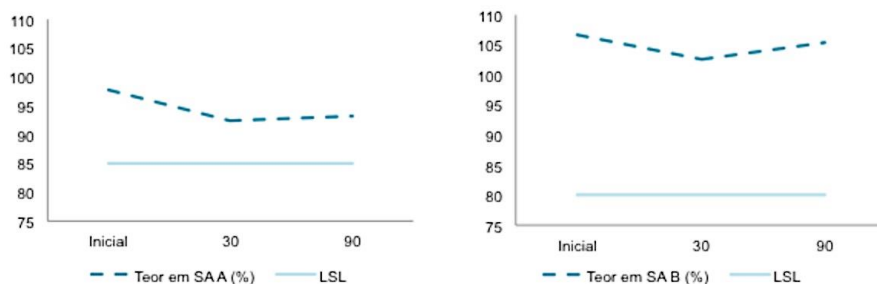
### Resultados obtidos para o ensaio de dissolução

Para os comprimidos por revestir identifica-se nas figuras 3.9 a 3.11 para os comprimidos por revestir e 3.15 a 3.17 a mesma tendência de degradação mas desta vez para ambas as SA. Ainda assim, para ambas as fases críticas, não constitui nenhum problema pelo que a estabilidade se pode garantir até ao 90 e 180 dias de armazenamento respectivamente. É necessário mencionar que os resultados obtidos para os ensaio de dissolução, apesar de fiáveis, podem variar muito por ser um ensaio pouco preciso. Assim é normal que não se verifique uma tendência constante.

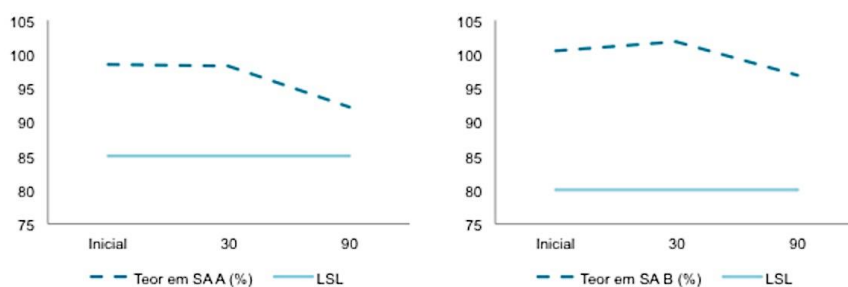


Figuras 3.9 (A) e (B) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias para as SA A e SA B do lote D067





Figuras 3.10 (A) e (B) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias para as SA A e SA B do lote D068



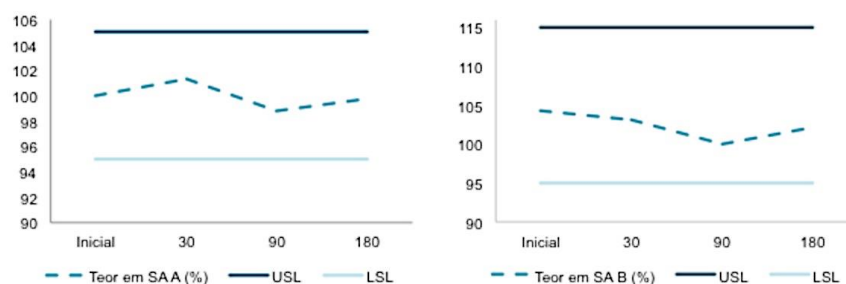
Figuras 3.11 (A) e (B) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias para as SA A e SA B do lote D069

### 3.1.3. Comprimidos Revestidos

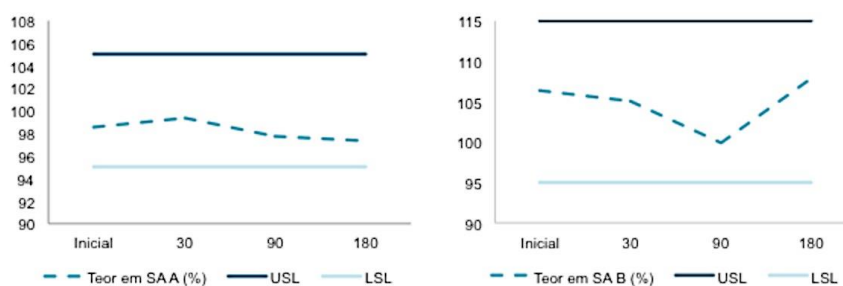
Para a última fase crítica do produto A, quase todos os resultados obtidos se revelaram conformes, ou seja, dentro dos limites de especificação. Por este motivo, são em muito semelhantes aos resultados alcançados para o ponto 3.1.2. Consequentemente apenas as particularidades obtidas serão analisadas e discutidas de seguida.

### Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

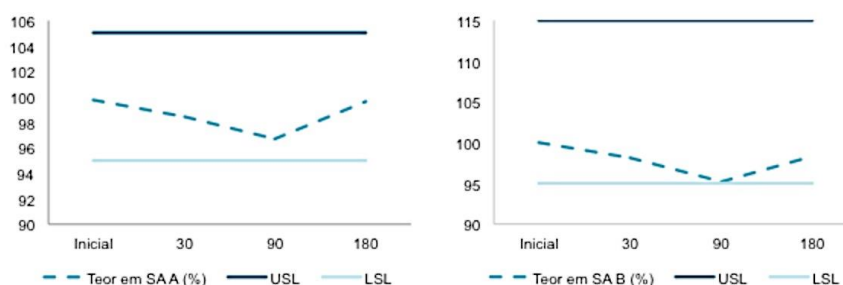
No caso dos comprimidos revestidos do produto A e para os ensaios de doseamento, foi necessário analisar uma ocorrência em particular: os resultados OOT que se observaram em quase todas as amostras analisadas aos 90 dias. Como foi referido anteriormente (ver ponto 1.12) cada amostra foi acondicionada em separado por forma a não inviabilizar as restantes amostras e desta forma os seguintes tempos a estudar. Uma possível explicação para o ocorrido recai sobre o erro de acondicionamento correspondente às amostras dos 90 dias. Uma vez que a causa não foi investigada, não foi possível assumir que o mesmo tenha sucedido. Ainda assim, os tempos seguintes revelaram-se conformes pelo que foi possível admitir a estabilidade do produto para os 180 dias nesta última fase crítica do processo de produção.



Figuras 3.12 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias para as SA A e B do lote D067



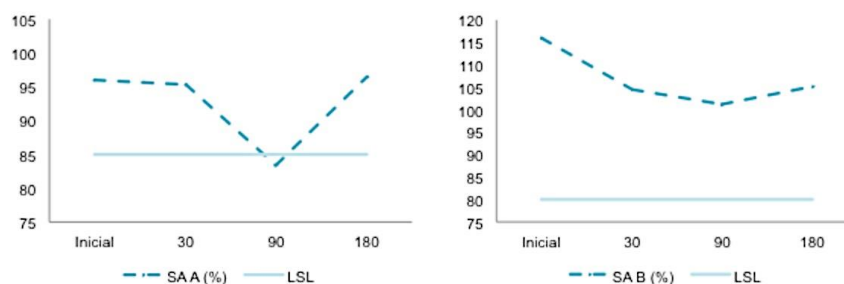
Figuras 3.13 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias para as SA A e B do lote D068



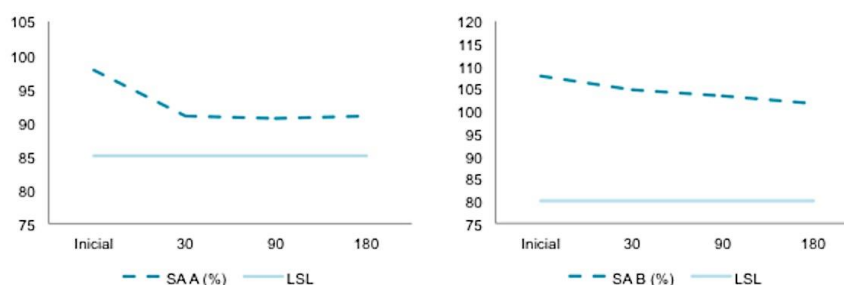
Figuras 3.14 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias para as SA A e B do lote D069

### Resultados obtidos para o ensaio de dissolução

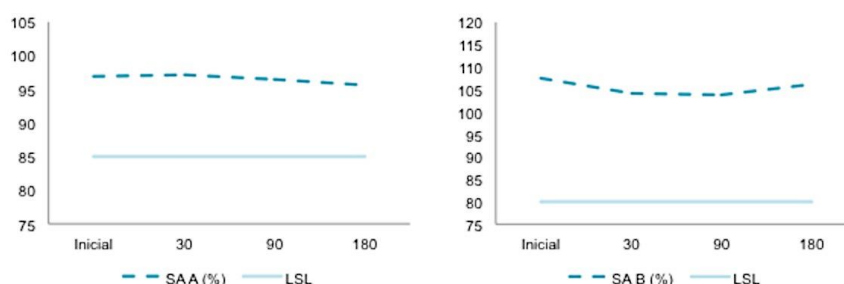
É de referir que o valor correspondente aos 90 dias do lote D067 para a SA A não se insere dentro dos limites de especificação. Ainda assim a causa não foi investigada uma vez que esta situação nunca ocorreu em nenhum dos outros lotes e/ou outros dias posteriores ao ocorrido. A par do ocorrido para os ensaios de doseamento dos comprimidos revestidos, é possível que tenha existido um mau acondicionamento da amostra para os 90 dias. À excepção do primeiro lote, D067, o resultados revelaram-se relativamente constantes.



Figuras 3.15 (A) e (B) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 180 dias para as SA A e B do lote D067



Figuras 3.16 (A) e (B) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias para as SA A e B do lote D068



Figuras 3.17 (A) e (B) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias para as SA A e B do lote D069

### Resultados obtidos para a contaminação microbiana

Os ensaios realizados para o tempo 0 e para os 180 dias revelaram resultados conformes. Assim, para a TAMC (*total aerobic microbial count* ou contagem total microbiana aeróbica) os resultados foram inferiores a 1000 cfu/g e para a TYMC (*total yeast mold count* ou contagem total de leveduras) foram inferiores a 100 cfu/g.

### 3.2. Produto B

Com composição semelhante ao Produto A, o Produto B difere substancialmente na forma de administração sendo este uma suspensão oral extemporânea. Os produtos de preparação

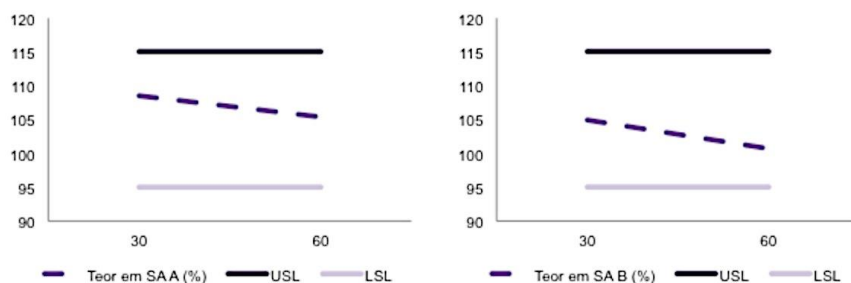
extemporânea caracterizam-se por pós ou grânulos que podem ser solúveis resultando em soluções ou insolúveis dando origem a suspensões. São preparações que não são estáveis na presença de água e que por isso se degradam com facilidade. Assim, só devem ser preparadas no momento da administração e têm um prazo de validade curto, após a sua preparação. Apenas apresentam uma fase crítica a testar uma vez que o produto final se caracteriza por uma mistura na forma de pó.

### 3.2.1. Mistura Final

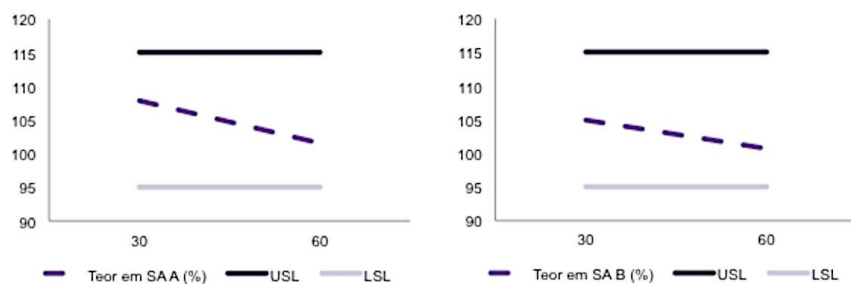
Esta fase crítica assemelha-se em muito à fase crítica inicial do produto anteriormente estudado, sobretudo por apresentar as mesmas SA. Ainda assim, por ser uma SOE, apresenta características diferentes e consequentemente o planeamento é diferente.

### Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

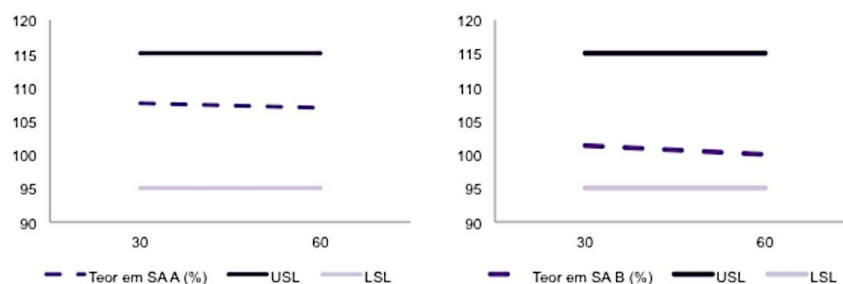
No decorrer deste ensaio, como explicitado pelas figuras 3.18, 3.19 e 3.20, o produto B apresentou resultados conformes demonstrando a total estabilidade do produto. No entanto foi necessário estudar a humidade das amostras para poder garantir a sua qualidade para os 60 dias.



Figuras 3.18 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 60 dias para as SA A e B do lote D014



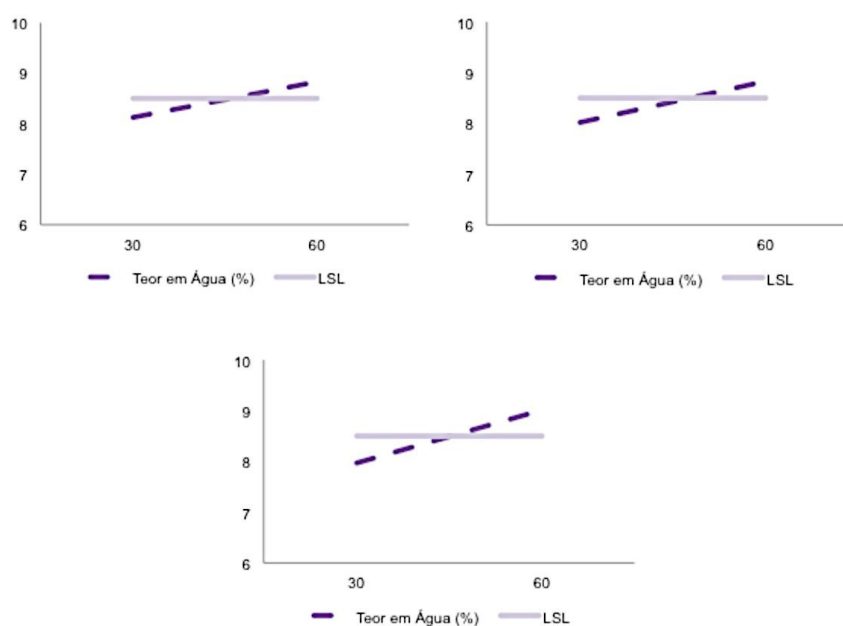
Figuras 3.19 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 60 dias para as SA A e B do lote D015



Figuras 3.20 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 60 dias para as SA A e B do lote D016

### Resultados obtidos para o ensaio de humidade

Relativamente ao ensaio de humidade (figura 3.21 A, B e C), a amostra correspondente aos 60 dias revelou valores mais elevados do que os aceitáveis. Uma justificação para o ocorrido pode passar pelo facto de não ter sido possível analisar o produto próximo de doseamento. A mistura ficou por isso exposta à humidade do meio mais tempo do que deveria caso estivesse acondicionada corretamente até á data da análise. Os componentes podem ter então absorvido a humidade presente no meio. No entanto é apenas uma hipótese, ainda que a mais provável. Uma vez que não existia mais quantidade de amostra disponível que não tivesse sido exposta, não foi possível verificar se os resultados estariam corretos caso estivessem armazenados convenientemente até à data do ensaio. Desta forma o ensaio de humidade para este produto aos 60 dias foi inconclusivo e apenas se pode admitir a estabilidade do produto B até aos 30 dias.



Figuras 3.21 (A), (B) e (C) - Resultados do ensaio de Karl-Fischer no decorrer de 14 dias para os lotes D014 (A), D015 (B) e D016 (C)

### **Resultados obtidos para a contaminação microbiana**

Para este produto apenas foi possível realizar ensaios de ordem microbiológica para o tempo final, 60 dias. Para a TAMC ou contagem total microbiana aeróbica os resultados foram inferiores a 1000 cfu/g e para a TYMC ou contagem total de leveduras) foram inferiores a 100 cfu/g.

### **3.3. Produto C**

Tal como o produto A e B, é um produto de forma sólida para administração oral, no entanto é produzido num edifício e secção. O processo decorre no sector de FSO1 do edifício 10 enquanto o anterior se processa no edifício 25, na secção de FSO2. Ainda assim, por apresentar semelhanças ao primeiro produto, as técnicas a aplicar foram as mesmas. Uma grande diferença reside na substância activa. Enquanto o produto A apresenta duas SA, no produto C apenas está presente uma SA: SA C.

Mais especificamente em relação ao produto, é um medicamento cuja SA actua no Sistema Nervoso Central (SNC) e que está indicado no tratamento de doenças como a hipobúlia, alterações afectivas e logopatia, associadas a sequelas de acidentes vasculares cerebrais isquémicos ou hemorrágicos e ateromatose cerebral.

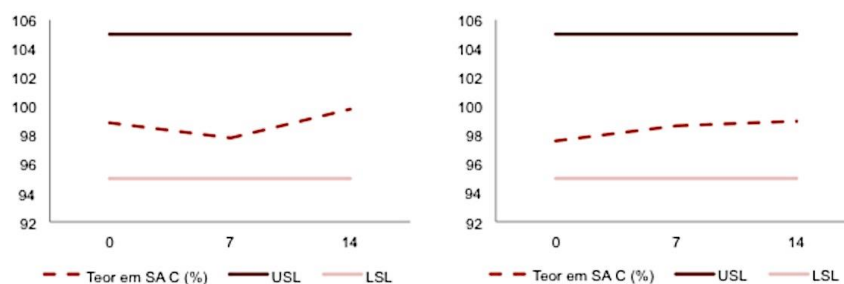
O objetivo do estudo deste produto passou também por verificar se produtos com a mesma forma farmacêutica, poderiam ter comportamentos muito diferentes que alterassem/influenciassem os parâmetros seleccionados de um HTS.

#### **3.3.1. Mistura Final**

Tal como para o produto A, as técnicas a utilizar foram o ensaio de doseamento e o ensaio de humidade. Estes ensaios são os que permitem, de uma forma mais correcta e precisa, demonstrar que as características fundamentais do produto se mantêm estáveis e consequentemente garantem a qualidade do produto.

### **Resultados obtidos para o ensaio de doseamento**

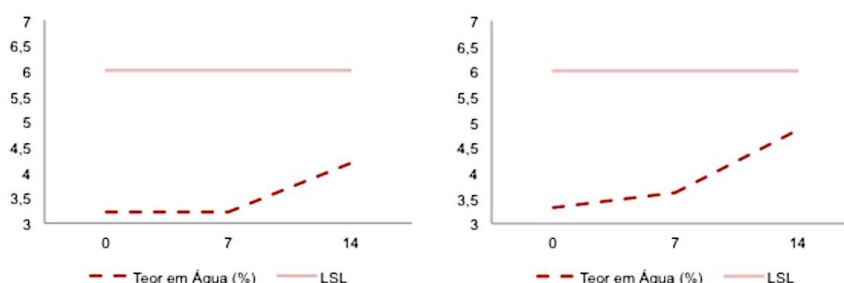
É necessário referir que por problemas de agenda não foi possível analisar as amostras correspondentes ao terceiro lote do produto. Ainda assim deve ser mencionado que os resultados apresentados na figuras 3. 22 A e B foram aceites por apresentarem valores dentro dos limites para dois lotes. Comparativamente ao produto A não se verificaram diferenças significativas no comportamento das amostras.



Figuras 3.22 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 14 dias para os lotes D017 (A) e D018 (B)

### Resultados obtidos para o ensaio de humidade

Apesar de os resultados se terem mantido dentro dos limites desejados (figura 3.23), os produtos apresentaram tendências diferentes: para o produto A foi possível observar que os valores se mantiveram relativamente constantes para esta fase crítica, o produto C apresentou resultados com uma tendência de humidade crescente. A diferença pode ter residido nos componentes do produto. Como já foi referido, o produto A é composto por uma substância tri-hidratada, o que não acontece com o produto C. Assim, o produto C pode ser um pouco higroscópico o que lhe concede facilidade na absorção de humidade.



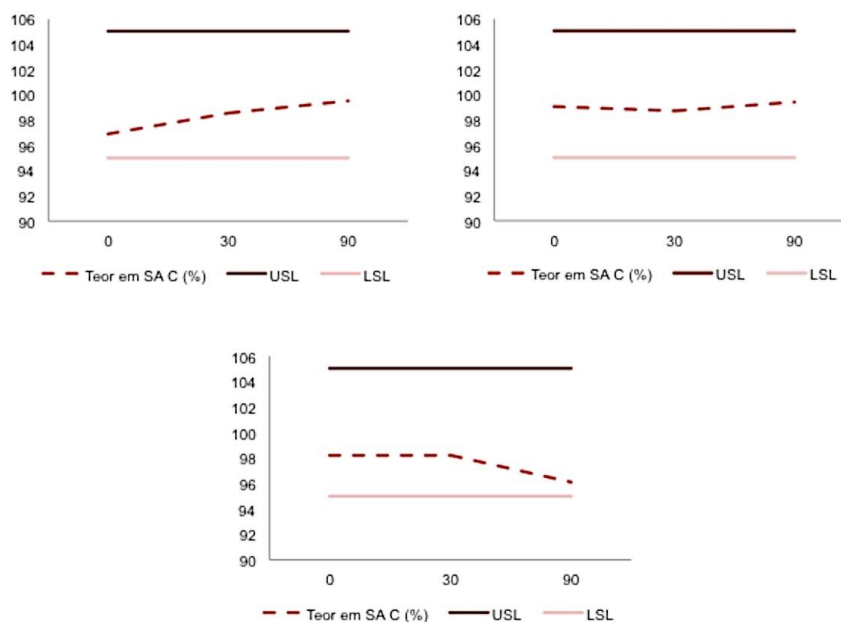
Figuras 3.23 (A) e (B) - Resultados do ensaio de Karl-Fischer no decorrer de 14 dias para os lotes D017 (A) e D018 (B)

### 3.3.2. Comprimidos para Revestir

Da mesma forma que para a anterior fase crítica, os ensaios são iguais ao praticados para o produto A. De seguida serão apresentados os resultados obtidos para cada um dos lotes, em ambos os ensaios.

## Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

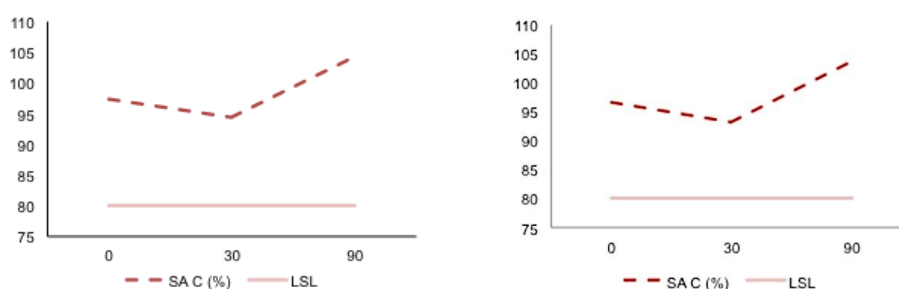
Para os 90 dias estipulados para esta fase crítica do processo do produto C, as amostras apresentaram resultados de acordo com os objetivos esperados. É possível observar que os valores resultantes dos ensaios de doseamento (figura 3. 24) se mantiveram relativamente constantes ao longo do tempo e por isso, de acordo com este ensaio, seria possível pensar na estabilidade para o produto para os 90 dias pré estabelecidos.



Figuras 3.24 (A), (B) e (C) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 90 dias para os lotes D017 (A), D018 (B) e D019 (C)

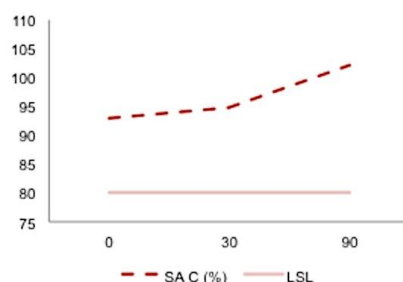
## Resultados obtidos para o ensaio de dissolução

Relativamente aos resultados apresentados nas figuras 3.25 e 3.26 não existe nada a apontar. As amostras mostraram-se estáveis ao longo dos 90 dias apresentando valores para o teor de SA C (%) acima dos limites de aceitação.



Figuras 3.25 (A) e (B) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias para os lotes D017 (A) e D018 (B)





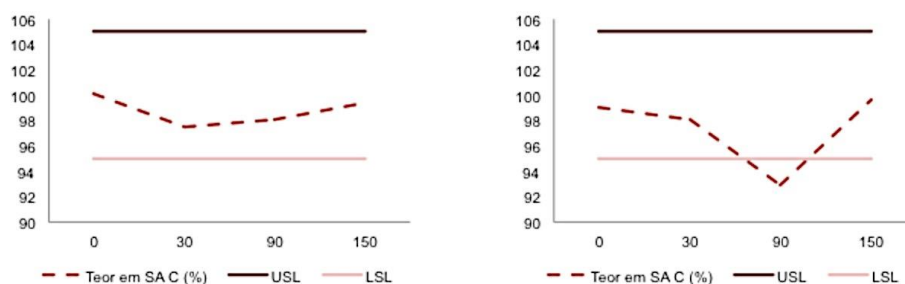
Figuras 3.26 - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 90 dias para o lote D019

### 3.3.3. Comprimidos Revestidos

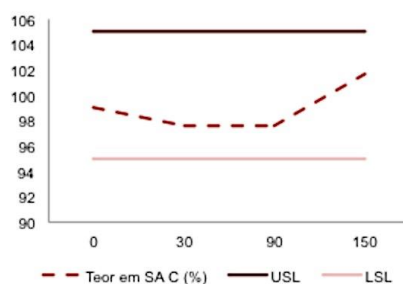
Neste tópico serão discutidos os resultados obtidos para os ensaios de doseamento e dissolução para a última fase crítica do produto C. Para a maioria dos tempos estabelecidos e estudados no decorrer destes ensaios, os resultados revelaram-se conformes.

#### Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

Uma vez que a produção deste produto se iniciou mais tarde do que o esperado não foi possível estender o armazenamento das amostras da última fase crítica até ao tempo desejado de 180 dias. Assim, a amostra apenas permaneceu armazenada por 150 dias, tempo em que foram realizados os ensaios estipulados. Ainda assim, num futuro estudo, deverá ser realizada uma amostragem que permaneça armazenada por 180 dias e analisar as suas propriedades de acordo com os ensaios estabelecidos anteriormente. Para o ensaio de doseamento, as amostras revelaram resultados positivos (figura 3.27 e 3.28) com exceção da amostra correspondente aos 90 dias para o lote D018. No entanto o erro pode ter sido puramente analítico uma vez que para os 150 dias, deste e de todos os outros lotes, o mesmo não aconteceu. A explicação pode ainda passar pelo mau acondicionamento da amostra, como foi explicado anteriormente (ver 3.1.1.).



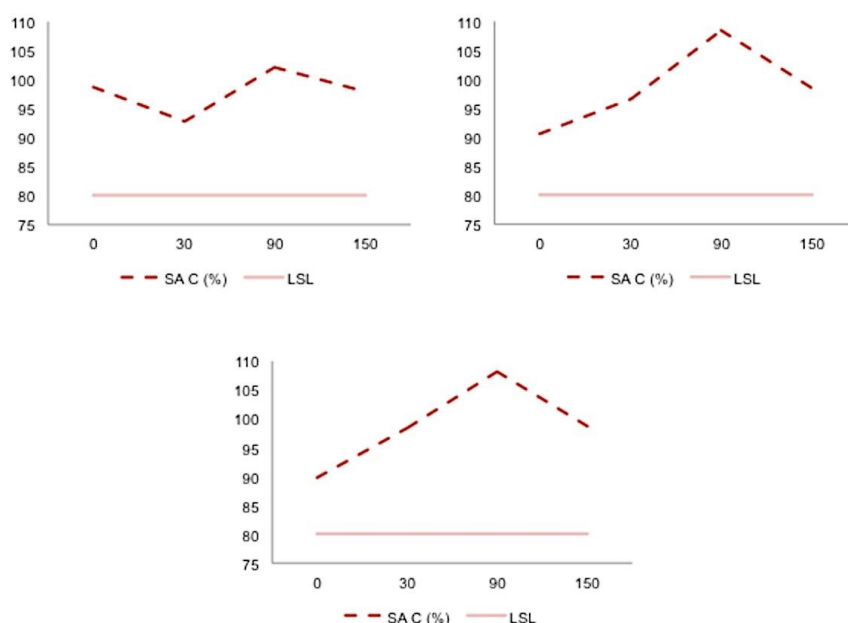
Figuras 3.27 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias para os lotes D017 (A) e D018 (B)



Figuras 3.28 - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 180 dias para o lote D019

### Resultados obtidos para o ensaio de dissolução

Apesar de não mostrarem uma linha de tendência uniforme, todos os resultados são aceitáveis uma vez que são superiores aos valores de especificação (figura 3.29).



Figuras 3.29 (A), (B) e (C) - Resultados do ensaio de dissolução no decorrer de 180 dias para os lotes D017 (A), D018 (B) e D019 (C)

### Resultados obtidos para a contaminação microbiana

Os resultados revelaram-se novamente conformes para os ensaios realizados para o tempo 0 e para os 150 dias. Para a TAMC (*total aerobic microbial count* ou contagem total microbiana aeróbica) o resultados foram inferiores a 1000 cfu/g e para TYMC (*total yeast mold count* ou contagem total de leveduras) foram inferiores a 100 cfu/g.

### 3.4. Produto D

A diferença deste produto perante os restantes é a sua forma líquida. É um xarope e por isso consiste numa preparação à base de água e concentrado de açúcar. Esta forma de administração é geralmente utilizada para substâncias com sabores desagradáveis e/ou para pacientes com dificuldade em ingerir formas sólidas.

Apesar da técnica de doseamento ser um ensaio recorrente em todos os produtos, neste tipo de produtos é realizado o teste de pH, uma vez que é uma característica vital e que influencia a qualidade do produto. De referir que, por impossibilidade de agenda, não foi possível recolher amostras de solução por filtrar relativas ao primeiro lote analisado.

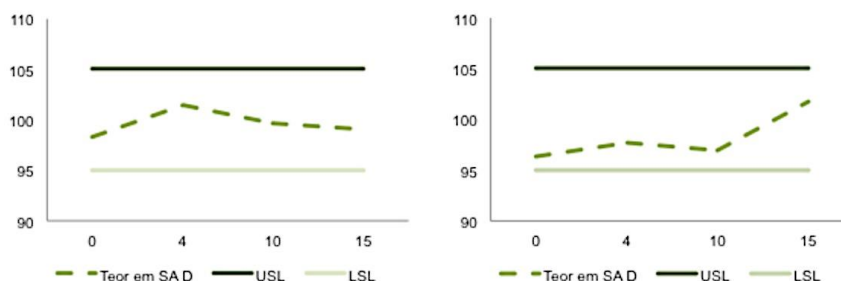
É um medicamento do grupo dos expetorantes que contém, como substância activa, um componente que estimula a secreção brônquica, favorecendo a produção de muco mais mobilizável, aumentando a atividade ciliar.

#### 3.4.1. Solução por Filtrar

Ambas as fases críticas se apresentam sob a forma de solução, diferindo apenas na etapa de filtração. Desta forma, os ensaios são os mesmos, diferindo no ensaio microbiológico.

#### Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

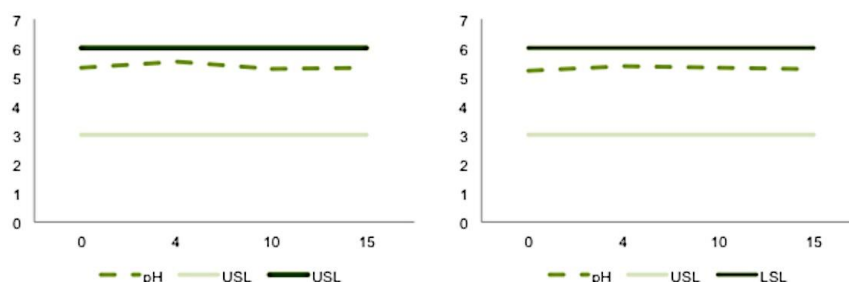
As amostras apresentaram resultados conformes no decorrer da experiência (figuras 3.30 A e B), demonstrando a sua estabilidade durante todo o tempo estabelecido para o estudo para a solução por filtrar. Assim sendo, pode admitir-se que é possível manter a estabilidade do produto por 15 dias.



*Figuras 3.30 (A) e (B) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 15 dias para os lotes D009 (A) e E001 (B)*

### Resultados obtidos para o ensaio de pH

Pode dizer-se que quando o produto em questão necessitar de algum tempo de espera o pH, da mesma forma que o doseamento, não será um problema durante 15 dias (figuras 3.31 A e B). O único facto a mencionar é a questão do pH estar muito próximo do limite superior de especificação. No entanto, uma vez que se manteve constante não deverá ser uma preocupação.



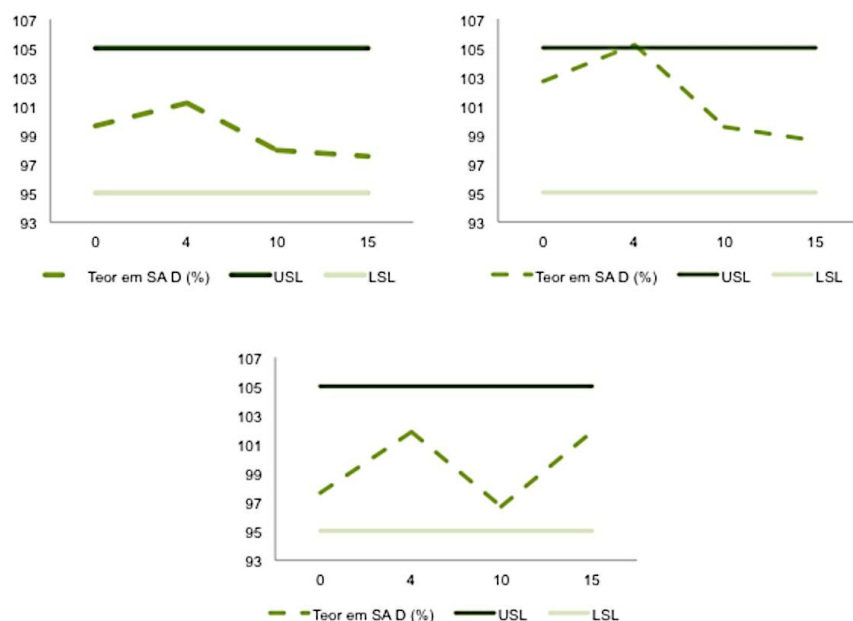
Figuras 3.31 (A) e (B) - Resultados do ensaio de pH no decorrer de 15 dias para os lotes D009 (A) e E001 (B)

### 3.4.2. Solução Filtrada

Como referido anteriormente, para a seguinte forma crítica os ensaios praticados são os mesmos praticados para a forma crítica anterior. A estes serão acrescentados os ensaios microbiológicos realizados ao tempo 0 e aos 15 dias, tempo final.

### Resultados obtidos para o ensaio de doseamento

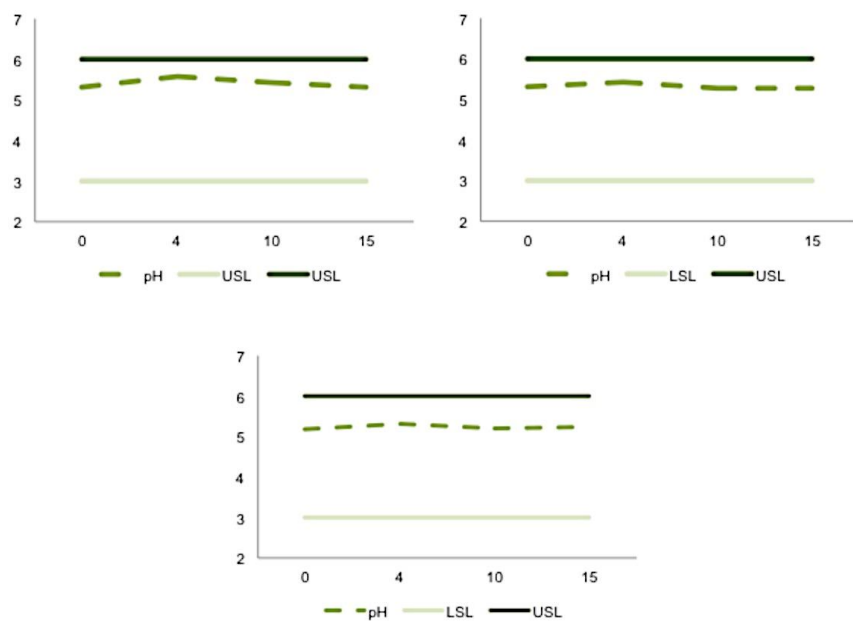
Da mesma forma que a solução por filtrar, todas as amostras mostraram resultados conformes durante os 15 dias estipulados para o produto. O único valor fora de especificação corresponde ao doseamento realizado ao 4º dia do lote D009 (figura 3.32 B). Ainda que não tenha sido investigada a causa e realizada uma investigação por OOS, da mesma forma que para os outros erros identificados em 3.1.3 e 3.3.3, o mesmo pode ter sido provocado por um erro analítico ou mau acondicionamento da amostra correspondente. Da mesma forma, para as outras situações mencionadas, o lote não foi rejeitado nem se procedeu a uma investigação, uma vez que as análises realizadas às amostras dos tempos posteriores revelaram resultados conformes não influenciando assim o estudo de estabilidade.



Figuras 3.32 (A), (B) e (C) - Resultados do ensaio de doseamento no decorrer de 15 dias para os lotes D008 (A), D009 (B) e E001 (C)

### Resultados obtidos para o ensaio de pH

As figuras 3.33 A, B e C revelam valores de pH dentro dos limites de especificação o que demonstra que o produto, para esta fase crítica pode permanecer armazenado durante 15 dias sem que isso implique alteração no produto final.



Figuras 3.33 (A), (B) e (C) - Resultados do ensaio de pH no decorrer de 15 dias para os lotes D008 (A), D009 (B) e E001 (C)

## **Resultados obtidos para a contaminação microbiana**

Para este produto, os ensaios realizaram-se para os 0 e para os 15 dias revelando mais uma vez conformidade. Com valores para a TAMC inferiores a 1000 cfu/g e inferiores a 100 cfu/g para a TYMC.

### **3.5. Investigação**

A partir da observação e análise de todos os resultados apresentados, é possível concluir que, na maioria dos casos, para cada produto e seus respetivos lotes, todos os ensaios apresentaram resultados dentro dos limites de especificação. Isto revela que durante o tempo previsto os produtos mantiveram as suas propriedades intrínsecas e consequentemente a sua eficácia e segurança. No entanto, é de mencionar que o produto A não correspondeu às expectativas numa das fases críticas: a mistura final.

No decorrer do estudo, nenhum dos três lotes analisados para o produto A apresentou uma mistura final cujos resultados se encontrassem dentro dos limites de especificação. Estes mesmos lotes foram analisados para as fases críticas seguintes: comprimidos para revestir e comprimidos revestidos. O produto final apresentou resultados conformes e por isso nenhum dos lotes foi rejeitado. Resumindo, apesar do produto final cumprir os requisitos exigidos, ocorreu um OOS na análise da mistura pelo que foi necessário proceder a uma investigação de acordo com o protocolo de uma investigação OOS. Essa verificação serviu para investigar a razão pela qual os resultados se encontraram fora de especificação.

Um aspeto relevante na observação analítica dos gráficos/resultados foi o facto de a substância activa A (SA A) ter estado sempre presente em quantidades inferiores às desejadas e a substância activa B (SA B) estar sempre em quantidades superiores.

De acordo com o procedimento correto, o ensaio foi repetido utilizando a mesma amostra. Ainda assim não foi possível averiguar a causa. Os resultados permaneceram fora dos limites de especificação. Depois de ter sido revisto todo o procedimento, o ensaio foi ainda repetido por outro analista, não apresentando resultados positivos. A etapa seguinte envolveu a revisão de todo o processo de produção.

Várias foram as hipóteses levantadas e colocadas para identificar uma possível causa. As únicas etapas entre a mistura final e o produto final são a compressão e o revestimento. Assim, tudo apontava para que a solução deste problema estivesse relacionada com a amostragem, granulometria e/ou densidade das substâncias activas.

### 3.5.1. Efeito da compactação sobre a uniformidade da mistura

Numa primeira abordagem realizou-se um ensaio de granulometria para averiguar se a etapa de compactação estaria relacionada com o problema em questão. Aquando da preparação da mistura final, apenas a SA A e os excipientes correspondentes são compactados antes da mistura com a SA B. Isto leva a que os grânulos da mistura sejam diferentes e que ambas as SA tenham diferentes diâmetros de grânulo. Com o objetivo de analisar se os grânulos estariam de tal forma irregulares e que assim resultassem numa amostra de mistura não uniforme, foi realizado o ensaio granulométrico. Para isso foram utilizados tamises com malhas de 500, 250 e 75  $\mu\text{m}$  para avaliar os diferentes diâmetros dos grânulos presentes na mistura. Além deste ensaio, todas as frações resultantes foram submetidas a ensaios de doseamento por forma a avaliar como estariam distribuídas as substâncias activas. Tudo isto foi analisado para três lotes sucessivos. Tornou-se muito evidente, tanto através da análise dos cromatogramas como macroscopicamente (figura 3.34), que os grânulos de diâmetro maior eram compostos pela SA A e os menores pela SA B. É possível que tenha existido uma segregação da SA A devido ao tamanho dos grânulos. Não podendo justificar esta afirmação sem a realização de testes adicionais, logo à partida foi possível comprovar uma grande variação no tamanho dos grânulos.



*Figuras 3.34 – Frações respectivas tamises de 500  $\mu\text{m}$  (A), 250  $\mu\text{m}$  (B), 75  $\mu\text{m}$  (C) e <75  $\mu\text{m}$  (D)*

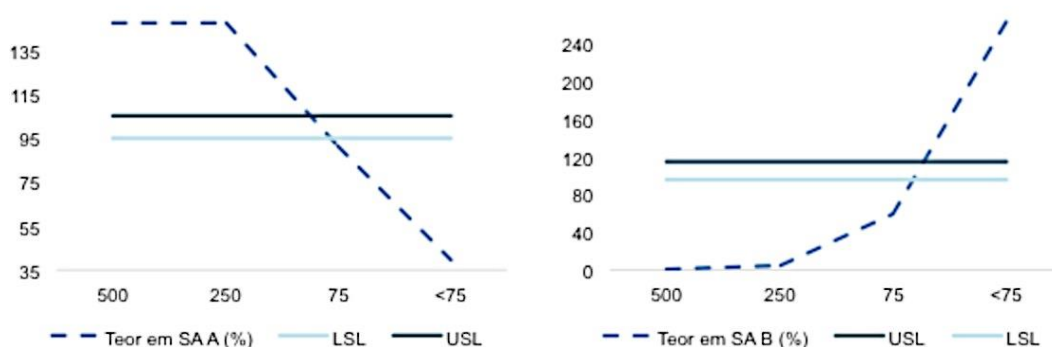
Uma conclusão a retirar do doseamento das frações resultante da granulometria foi a seguinte: a fracção correspondente ao tamise com malha de 75  $\mu\text{m}$  foi a única a apresentar resultados que se encontravam dentro dos limites de especificação. Ficou assim demonstrada a não uniformidade da mistura quando separada por diferentes tamanhos de partículas como é possível observar através das figuras 3.35 A e B. Os resultados apresentados correspondem a uma média dos valores obtidos ao longo de 14 dias, neste caso para o lote E004, para todas as frações analisadas. Apesar de não estarem representados, todos os lotes apresentaram a mesma tendência de resultados.

O facto de a substância activa A estar presente num grânulo maior, poderia contribuir para a hipótese de segregação da substância o que poderia ter levado a que a amostragem não tivesse sido bem-sucedida já que foi efectuada do topo das barricas. Por forma a determinar se esta hipótese estaria correcta, procedeu-se a uma amostragem de 5 pontos diferentes do misturador. Uma vez que esta seria muito provavelmente a causa do problema, estas amostras foram de imediato submetidas a

ensaios de doseamento no decorrer de 14 dias. Desta forma seria possível avaliar a estabilidade, e consequente qualidade do produto A para esta fase crítica.. Os resultados obtidos encontram-se no ponto 3.5.2. (figuras 3.39, 3.40 e 3.41) devidamente justificados.

Além destes ensaios, foi estudada uma alteração no processo de produção no sentido de tentar melhorar a uniformidade da mistura. Assim, acrescentou-se uma nova etapa de compactação e foi analisada a densidade e granulometria antes e depois da mesma.

Como é possível observar a partir da análise das tabelas 3.3 e 3.4 e também pela curva granulométrica representada na figura 3.36, a densidade não sofre alterações. Porém, a granulometria altera-se com uma nova etapa de compactação, como seria de esperar. Conclui-se que a densidade não terá sido a causa do problema a resolver mas sim a não uniformidade dos grânulos da mistura, como já tinha sido posto em causa anteriormente. Esta etapa, apesar de mostrar claros sinais de melhoria, não será integrada no processo visto que as melhorias não são significativas.



Figuras 3.35 (A) e (B) - Média dos resultados obtidos durante 14 dias no ensaio de doseamento do lote E004 para a SA A e SA B

Tabela 3-3 - Resultados do ensaio de granulometria à mistura II com uma nova etapa de compactação

Antes da Compactação			Depois da Compactação		
Malhas	Peso (g)	%	Malhas	Peso (g)	%
500 µm	2,71	27	500 µm	3,38	34
250 µm	2,03	20	250 µm	2,75	27
75 µm	2,59	26	75 µm	2,62	26
45 µm	1,04	10	45 µm	0,61	6
<45 µm	1,67	17	<45 µm	0,69	7



Tabela 3-4 - Resultados do ensaio de densidade à mistura II com uma nova etapa de compactação

	Antes da Compactação	Depois da Compactação
Densidade Inicial (g/ml)	0,588	0,588
Densidade Batida (g/ml)	0,741	0,741

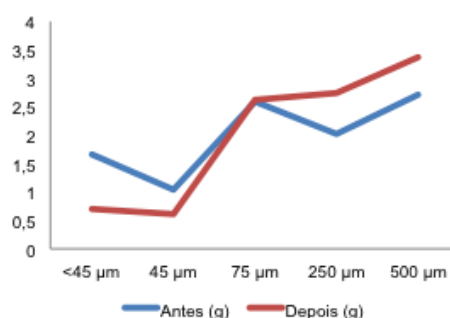


Figura 3.36 - Representação da curva de granulometria antes e depois da compactação

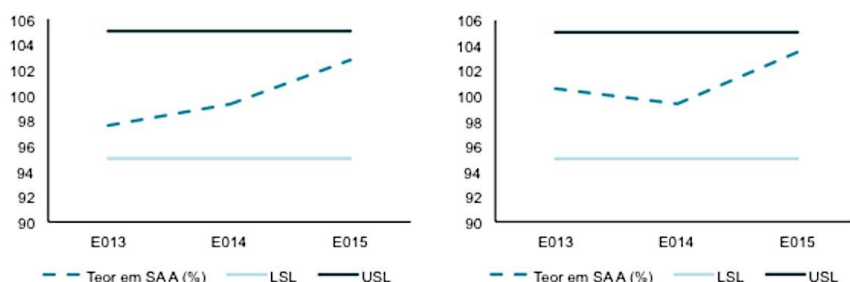
### 3.5.2. Efeito da segregação da SA A na amostragem

Por fim, e de forma a averiguar se a amostragem poderá ter sido de facto a causa do resultado OOS, foi realizada uma amostragem extra para um novo ensaio de doseamento. O objetivo foi proceder a uma amostragem do topo e da base da barrica, 12 horas após a preparação da mistura, comprovando que a substância activa A possa ter segregado devido à não uniformidade da granulometria. Como é possível observar a partir das figuras 3.37 e 3.38, os resultados para ambas as SA apenas são significativos para o lote E013. Ainda que a decisão a tomar deva ser feita com base em todos os resultados obtidos, o facto de existirem alterações, mesmo que num só lote, é muito relevante.

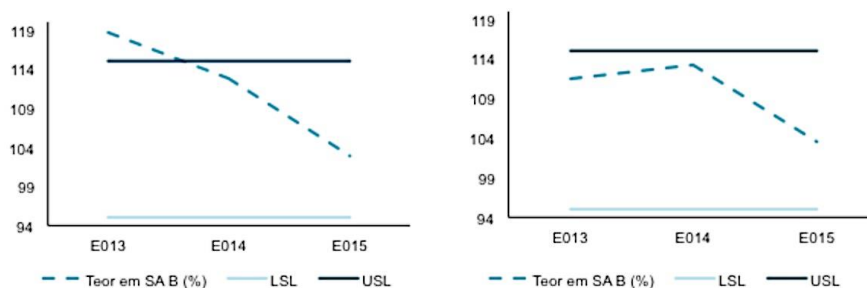
Além dos resultados correspondentes às amostras obtidas 12 horas após o final da mistura, é também necessário mencionar os resultados determinados através do ensaio de doseamento realizado a amostras resultantes de 5 pontos do misturador. Como é possível verificar a partir da observação analítica das figuras 3.39, 3.40 e 3.41., os resultados revelaram-se conformes, não só admitindo a estabilidade da mistura como também a hipótese de segregação da SA A. Assim, apesar de a amostragem anterior apenas ter revelado valores significativos para o lote E013, estes resultados comprovam toda a teoria desenvolvida.

A par destes ensaios decorreram também as validações de processo. Foi possível observar que, quando a amostra não era triturada, pulverizada, antes de iniciar o ensaio de doseamento, os resultados não correspondiam aos desejados. Ao proceder à pulverização foi possível observar que os valores corresponderam aos expectáveis como está demonstrado nas figuras 3.42 (A) e (B). É fácil de

compreender o porquê deste facto; como referido anteriormente, a não uniformidade da granulometria na mistura de cada amostra em causa, leva a que ao realizar o doseamento, ambas as SA não sejam seleccionadas da mesma forma originando resultados OOS. Apesar de não ser possível comprovar, a amostragem pode ficar comprometida caso não seja realizada como é preconizado pelo protocolo, ou seja, caso não seja realizada uma amostragem a vários níveis de altura da barrica. É desejável que se obtenha a amostra assim que a mistura seja preparada. Além disso, uma vez identificada a possível causa, todos os cuidados a ter previamente enunciados foram tidos em conta evitando assim a não conformidade dos resultados.



Figuras 3.37 (A) e (B) - Resultado do ensaio de doseamento à SA A no topo e base da barrica 12h após a mistura



Figuras 3.38 (A) e (B) - Resultado do ensaio de doseamento à SA B no topo e base da barrica 12h após a mistura

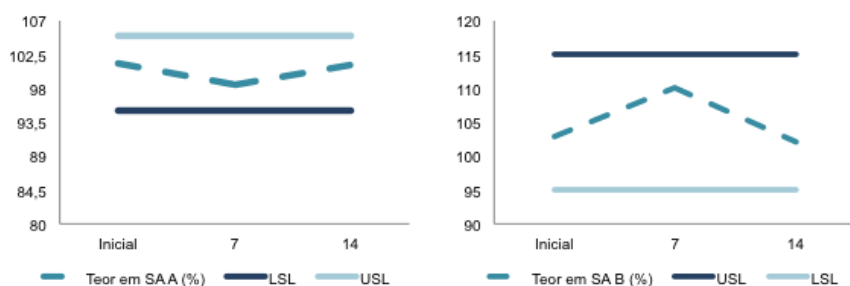


Figura 3.39 (A) e (B) – Repetição do ensaio de doseamento tendo em conta os cuidados mencionados para o lote E004

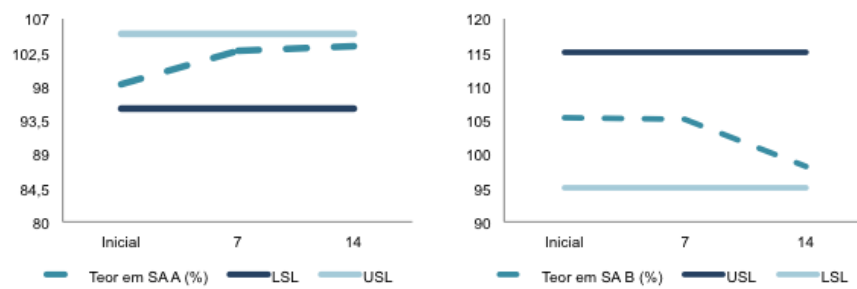


Figura 3.40 (A) e (B) – Repetição do ensaio de doseamento tendo em conta os cuidados mencionados para o lote E005

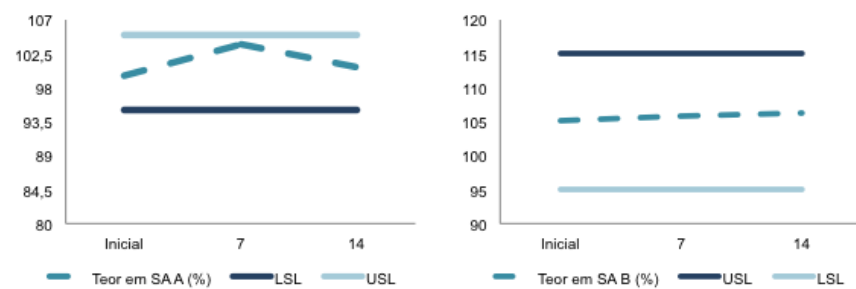


Figura 3.41 (A) e (B) – Repetição do ensaio de doseamento tendo em conta os cuidados mencionados para o lote E006

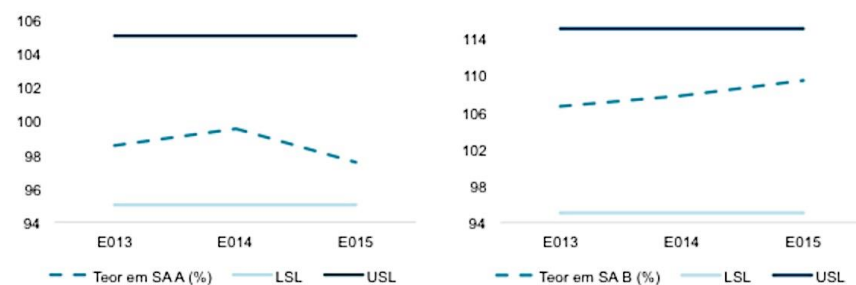


Figura 3.42 (A) e (B) – Média dos resultados obtidos no ensaio de doseamento a cada lote analisado para as SA A e SA B na mistura final



## 4. Conclusões

Após um estudo aprofundado de cada produto e de um esforço em reunir todos os parâmetros exequíveis para cada um deles, foi necessário redigir um protocolo por forma a garantir a credibilidade do estudo. No final do estudo verificou-se que, dos quatro produtos analisados, três mantiveram a sua qualidade durante os tempos estabelecidos. Isto demonstra que foi possível otimizar o processo de produção de três produtos. O medicamento B foi o único para o qual não foi possível obter os resultados esperados.

O produto A, tal como o produto C, apresentam a mesma forma farmacêutica: comprimidos revestidos. Assim sendo apresentam também as mesmas fases críticas: mistura final, comprimidos para revestir e o produto final, comprimidos revestidos. Para uma primeira fase foi possível assegurar a sua qualidade durante 14 dias. Assim, a mistura final pode permanecer armazenada todo este tempo sem que isso implique um decréscimo na qualidade do produto final. Na fase seguinte foi possível certificar que os comprimidos para revestir apresentaram estabilidade durante 90 dias o que permite uma flexibilidade à produção de aproximadamente 3 meses. Finalmente, na última etapa, foi possível manter os comprimidos revestidos armazenados em *bulk* durante 180 dias para o produto A. Não foi possível estudar o produto C durante tanto tempo quanto desejado devido a um atraso na produção, o que levou apenas a poder assegurar a sua qualidade durante 150 dias. Ainda assim, este trabalho permitiu determinar a estabilidade para todas as fases críticas de ambos os produtos.

O produto D, por apresentar uma forma farmacêutica não tão estável a longo prazo quanto os produtos anteriores, apenas demonstrou estabilidade durante 15 dias, para ambas as fases críticas do seu processo.

Com este estudo foi possível provar que o produto B, que apenas dispõe de uma fase crítica, não é estável até aos 60 dias de armazenamento como era desejável. No entanto poderá ter resultado de uma ineficiência na análise da humidade e uma primeira proposta para um próximo estudo poderá passar por repetir o ensaio para os 60 dias de armazenamento. Ainda assim, a conclusão deste estudo apenas certifica a sua estabilidade para um limite de 30 dias.

De todos os ensaios realizados, desde a dissolução a testes de pH, o ensaio de doseamento revelou ser fundamental para qualquer fase crítica ou forma farmacêutica apresentada. Isto demonstra que a maior preocupação para uma qualidade de excelência reside na quantidade de substância activa presente no medicamento ao longo do tempo. Relmente aos ensaios microbiológicos, todos os produtos apresentaram resultados correspondentes ao desejado, demonstrando assim que existe uma grande preocupação em manter os ambientes de produção controlados a qualquer contaminação. A partir deste momento existem resultados que comprovam a garantia da qualidade destes produtos, caso seja necessário parar a linha de produção.

Existem outras sugestões a ter em conta. Um dos problemas que surgiu no decorrer desta dissertação está relacionado com a mistura final do produto A e por isso devem existir alguns cuidados. Inicialmente a mistura não apresentou resultados conformes para o ensaio de doseamento. Foi necessário estudar qual o factor que estaria a provocar o erro por forma a poder ser corrigido. Uma vez que o erro apresentado não demonstrou qualquer influência nas etapas críticas seguintes não foi necessária a rejeição de qualquer um dos lotes. Para compreender qual o erro a retificar foram realizados ensaios de granulometria, novas amostragens e até novas etapas no processo de produção. Através dos primeiros ensaios de granulometria foi possível verificar que ambas as SA apresentavam grânulos de tal forma diferentes que poderiam levar a uma segregação dos grânulos de diâmetro maior. Estes correspondem à SA A e os grânulos de diâmetro inferior são maioritariamente compostos pela SA B. Após novas amostragens, também foi possível verificar a necessidade de reduzir ao máximo o tempo que decorre entre o final da mistura e a amostragem. Esta não deve ser realizada muito tempo após a mistura estar terminada e além disso deve ser colhida a vários níveis de altura da barrica. Este facto encontra-se relacionado com a granulometria da mistura. Uma vez que pode ter ocorrido uma segregação da SA A, pode levar a que a amostra obtida não inclua, de uma forma uniforme, ambas as SA. Não obedecer a todos estes cuidados pode levar a que não se obtenha uma amostra uniforme. A compactação extra não revelou melhorias significativas na uniformidade e por esse motivo não se enquadra como uma sugestão para um estudo futuro. Uma proposta a ter em conta poderá passar por incluir na monografia do produto a pulverização da amostra antes de iniciar o ensaio de doseamento para a mistura. Uma vez que a mistura não é uniforme em termos de granulometria, como foi comprovado por esta investigação, as sugestões referidas são cruciais. Estas alterações permitiram obter novos e correctos resultados uma vez identificada a causa: não uniformidade da mistura final.

É de referir que todos os relatórios/protocolos redigidos no decorrer deste trabalho foram realizados de acordo com as GMP estipuladas para esta temática e estão integrados na documentação interna da empresa. O facto desta abordagem ser relativamente recente e inovadora leva a que a bibliografia disponível seja mínima.

Na tabela seguinte (tabela 4.1) encontra-se um resumo da análise dos tempos de espera para os produtos escolhidos em termos de conclusão.

Tabela 4-1 - Tabela resumo do total de dados obtidos

Produtos	Estabilidade para HTS
<b>Produto A</b>	Mistura Final: 14 dias Comprimidos para Revestir: 90 dias Comprimidos Revestidos: 180 dias
<b>Produto B</b>	Mistura Final: 30 dias
<b>Produto C</b>	Mistura Final: 14 dias Comprimidos para Revestir: 90 dias Comprimidos Revestidos: 150 dias
<b>Produto D</b>	Solução por Filtrar: 15 dias Solução Filtrada: 15 dias





## 5. Bibliografia

- [1] Atral. (n.d.). Retrieved September 25, 2015, from <http://www.atral.pt/>
- [2] Controle de Qualidade. (n.d.). Retrieved September 24, 2015, from [http://www.garantiadaqualidade.com.br/controle\\_qualidade.htm](http://www.garantiadaqualidade.com.br/controle_qualidade.htm)
- [3] Hovione. (n.d.). *Cultura de Qualidade*. Retrieved September 25, 2009, from <http://www.hovione.pt/inovacao-e-qualidade/qualidade/cultura-de-qualidade>
- [4] Catira, L., Neves, P., Castro, A., & Fonseca, L. (2009). *Norma ISO 9000*.
- [5] Galdino Rocha, T., & Betoni Galende, S. (2014). A Importância Do Controle De Qualidade Na Indústria Farmacêutica. *Revista UNINGÁ* , 20 (2), p. 7.
- [6] Santos, M. M. (2010). Contributo Para Normalização Da Actividade Regulamentar Na Indústria Farmacêutica: Proposta De Norma Para Sistema De Gestão Da Qualidade E Sua Aplicabilidade. 258.
- [7] ISPE. (n.d.). *Good Manufacturing Practice (GMP) Resources*. Retrieved October 22, 2015, from <http://www.ispe.org/gmp-resources>
- [8] World Health Organization. (2015). Annex 4: General guidance on hold-time studies
- [9] Rae, I., Minns, A., Schofield, S., Bayliss, P., Bowden, A., Butcher, A., et al. (2001). *Risk Assessment and Management* (Vol. 545).
- [10] *Gestão de Risco*. (n.d.). Retrieved March 6, 2016, from <http://www.edp.pt/pt/aedp/governosocietario/gestaodorisco/Pages/RiskManagement.aspx>

- [11] European Commission. (2008). Anexo 20: Gestão dos Riscos de Qualidade. *EudraLex Guidelines - Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines* , 4.
- [12] European Commission. (2014). Chapter 6: Quality Control. *EudraLex Guidelines - Good manufacturing practice (GMP)* , 4, 8.
- [13] Sankaraiah, J., Bandaru, S., Nair, K. A., & Mallu, R. U. (2012). Hold Time Stability Studies in Pharmaceutical Industry : Review. *Pharmaceutical Regulatory Affairs* , 1 (4).
- [14] Bouwman-Boer, Y., Fenton-May, V., & Le-Brun, P. (2015). *Practical Pharmaceutics - An International Guideline for the Preparation, Care and Use of Medicinal Products*. Springer Interntional.
- [15] *Formas Farmacêuticas | Farmaceutico Digital*. (n.d.). Retrieved February 23, 2016, from <http://www.farmaceuticodigital.com/2012/09/formas-farmaceuticas.html>
- [16] World Health Organization. (2011). Definition Of Active Pharmaceutical Ingredient. (*July*) , 4.
- [17] Atral. (2013). Avaliação dos Tempos de Espera nas diferentes Etapas de Fabrico (Hold Time Studies). 6.
- [18] Agilent Technologies Incorporated. (2012). HPLC Basics Fundamentals of Liquid Chromatography.
- [19] British Pharmacopoeia. (n.d.). *Appendix III D. Liquid Chromatography*. Retrieved February 27, 2016, from <http://www.uspbpep.com/bp2008/data/960.asp>
- [20] Crawford Scientific. (n.d.). *Quantitative & Qualitative HPLC*. Retrieved January 20, 2016, from Chrom Academy : [http://www.chromacademy.com/lms/sco9/Theory\\_Of\\_HPLC\\_Quantitative\\_and\\_Qualitative\\_HPLC.pdf](http://www.chromacademy.com/lms/sco9/Theory_Of_HPLC_Quantitative_and_Qualitative_HPLC.pdf)
- [21] Atral. (2016). Gestão de Análises Cromatográficas. 12.
- [22] Sewell P.A (2000) *Theory of liquid chromatography. Encyclopedia of separation science* Academic Press, London.
- [23] British Pharmacopoeia. (n.d.). *Appendix III Chromatographic Separation Techniques*. Retrieved February 27, 2016, from <http://www.uspbpep.com/bp2008/data/964.asp>
- [24] British Pharmacopoeia. (n.d.). *Appendix IX C. Determination of Water*. Retrieved February 27, 2016, from <http://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/BP2010/data/941.html>

- [25] Aurand, C. (2010). Moisture Determination by Karl Fisher Titration. 53.
- [26] Hach Company. (2015, May). Volumetric Karl Fischer Titration. 2, 7.
- [27] Infarmed. (n.d.). *Avaliação Biodisponibilidade/Bioequivalência*. Retrieved March 10, 2016, from [http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS\\_USO\\_HUMANO/AVALIACAO\\_TECNICO\\_CIENTIFICA/AVALIACAO\\_DISPONIBILIDADE\\_EQUIVALENCIA](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MEDICAMENTOS_USO_HUMANO/AVALIACAO_TECNICO_CIENTIFICA/AVALIACAO_DISPONIBILIDADE_EQUIVALENCIA)
- [28] Davidson, R. (n.d.). Ensaios de Farmacotecnia.
- [29] British Pharmacopoeia. (n.d.). *Appendix XII B - Dissolution*. Retrieved from <http://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/BP2010/data/896.html>
- [30] Gharaibeh, S. (n.d.). *pH calculations and more in fundamentals of pharmaceuticals*. Retrieved March 12, 2016, from <http://phcalculator.blogspot.pt/2013/04/importance-of-ph-in-pharmacy-and.html>
- [31] Sandle, T. (2015). *Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control*. Woodhead Publishing.
- [32] World Health Organization. (2014, August). General Guidance On “ Hold - Time ” Studies.
- [33] Regulating Medicines and Medical Devices. (2013). Out Of Specification Investigations. 39.
- [34] Kamalizad, A. (2012, November). OOS Results in FDA Warning Letters - How to perform appropriate Investigation, and a touch od CAPA plus case studies.
- [35] Food and Drugs Administration. (2006, October). Guidance for Industry: Investigating Out-of-Specification (OOS) Test Results for Pharmaceutical Production. 17.



## **6. Apêndice**

**ANEXO I – INVESTIGAÇÃO DE RESULTADOS ANALÍTICOS FORA DE ESPECIFICAÇÃO**

**ANEXO II – RELATÓRIO DA MISTURA**

**ANEXO III - PROTOCOLOS**

**ANEXO IV – RELATÓRIOS**